



Titre: Étude de la réponse hémodynamique dans un modèle réussi de vieillissement chez le rat par imagerie optique intrinsèque
Title: vieillissement chez le rat par imagerie optique intrinsèque

Auteur: Simon Dubeau
Author:

Date: 2011

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Dubeau, S. (2011). Étude de la réponse hémodynamique dans un modèle réussi de vieillissement chez le rat par imagerie optique intrinsèque [Ph.D. thesis, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/632/>
Citation:

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/632/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Frédéric Lesage, Guylaine Ferland, & Éric Beaumont
Advisors:

Programme: Génie biomédical
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉTUDE DE LA RÉPONSE HÉMODYNAMIQUE DANS UN MODÈLE RÉUSSI DE
VIEILLISSEMENT CHEZ LE RAT PAR IMAGERIE OPTIQUE INTRINSÈQUE

SIMON DUBEAU
INSTITUT DE GÉNIE BIOMÉDICAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIÆ DOCTOR
(GÉNIE BIOMÉDICAL)
AOÛT 2011

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

ÉTUDE DE LA RÉPONSE HÉMODYNAMIQUE DANS UN MODÈLE RÉUSSI DE
VIEILLISSEMENT CHEZ LE RAT PAR IMAGERIE OPTIQUE INTRINSÈQUE

présentée par : DUBEAU Simon

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiæ Doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

M. SAVARD Pierre, Ph.D., président

M. LESAGE Frédéric, Ph.D., membre et directeur de recherche

Mme FERLAND Guylaine, Ph.D., membre et codirectrice de recherche

M. BEAUMONT Éric, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. LINA Jean-Marc, Ph.D., membre

M. SHMUEL Amir, Ph.D., membre

REMERCIEMENTS

Cette thèse n'aurait pas été ce qu'elle est sans la collaboration de plusieurs personnes.

Un gros merci à tous ceux qui m'ont aidé lors des expériences à Sacré-Coeur. Merci à Éric Beaumont pour m'avoir enseigné l'art des chirurgies. Merci à Michel Vermeulen pour l'aide technique apportée et pour les nombreuses informations sur les mesures électrophysiologiques. Merci à Caroline Bouchard pour les deux mains supplémentaires fort nécessaires pour sauver les rats et les expériences lors de manipulations difficiles. Et un gros merci pour m'avoir supporté dans mes spleens causés par de trop longues semaines d'expériences.

Merci à mes co-directeurs, Éric Beaumont et Guylaine Ferland, pour les tous les conseils apportés. Merci à mon directeur, Frédéric Lesage pour l'aide, la motivation, et le support apportés durant tous le doctorat. J'aurais difficilement pu demander mieux.

Un gros merci à Michèle Desjardins et à Élisabeth Rioux pour la lecture et les commentaires apportés dans la rédaction de la thèse.

J'aimerais également souligner l'encouragement que ma famille, mes amis et de ma compagne qui m'ont supporté et m'ont permis de me changer les idées durant toutes ces années.

Au pont de vue financier, je remercie le RQRV pour l'octroi d'une bourse d'étude et pour avoir mis à notre disposition les colonies de rats sous restriction calorique et de rats LOU pour nous permettre de mener à bien les expériences.

RÉSUMÉ

L'enjeu de cette thèse de doctorat est de mesurer les changements de paramètres neuro-vasculaires et les modifications de la réponse hémodynamique au cours du vieillissement chez le rat. La réponse hémodynamique est le processus par lequel, suite à une augmentation de l'activité neuronale, il se produit une augmentation locale du débit sanguin pour suivre les changements de l'activité métabolique venant de l'activité neuronale. La mesure de la réponse hémodynamique est à la base de l'imagerie fonctionnelle et permet de suivre de façon indirecte les changements d'activité neuronale à travers le couplage neurovasculaire. Toutefois, de nombreuses propriétés physiologiques du cerveau (débit, volume sanguin, compliance des vaisseaux, densité vasculaire, etc.) peuvent être modifiées au cours du vieillissement et affecter le couplage neurovasculaire. Cette thèse vise donc à mieux comprendre les changements de couplage neurovasculaire au cours du vieillissement et leur effet sur les mesures obtenues en imagerie fonctionnelle.

Dans le cadre de cette thèse, les changements de réponse hémodynamique ont été mesurés à l'aide d'un système d'imagerie optique intrinsèque (IOI) développé au laboratoire. Cette technique récente d'imagerie cérébrale se base sur les propriétés d'absorption de la lumière visible dans le cortex. La technique a une très bonne résolution spatiale et une faible profondeur de pénétration ce qui en fait une technique très bien adaptée à l'étude chez le rat. En IOI, la lumière visible illumine le cortex et voyage dans la couche superficielle du cerveau avant d'être réfléchi à la surface du cortex et mesurée à l'aide d'une caméra CCD. Lors de sa propagation à travers le cortex, une partie de la lumière est absorbée par les deux principaux chromophores présents (l'hémoglobine et la déoxyhémoglobine). Ainsi, les changements de concentration d'un chromophore peuvent être déterminés à travers des changements d'intensité lumineuse. Ce qui permet ensuite d'étudier les concentrations de sang oxygéné et désoxygéné. En plus des mesures d'IOI, le système mesure simultanément les changements de débit sanguin à travers une mesure par granularité laser.

La première partie des résultats mesure les changements de la réponse hémodynamique au cours du vieillissement. Les principales observations consistent en une diminution de l'amplitude de la réponse hémodynamique et une augmentation du temps d'activation de la réponse hémodynamique en fonction de l'âge. On observa aussi des changements spatiaux de la réponse hémodynamique. Ainsi, l'amplitude de la réponse hémodynamique diminue plus lentement en fonction du vieillissement du côté ipsilatéral à la stimulation par rapport au côté contralatéral.

La deuxième partie des travaux étudie le couplage neurovasculaire à l'aide de trois modèles

biophysiques distincts. Les trois modèles biophysiques permettent de reproduire les différentes formes de réponse hémodynamique présentes dans nos diverses populations de rats. Une comparaison des modèles par log évidence n'a pas permis de trouver de différence significative entre les performances des trois modèles biophysiques. Toutefois, le modèle Boas-Huppert que nous avons développé montre un avantage par rapport aux autres modèles puisqu'il permet de retrouver certains paramètres neurovasculaire au repos. Les travaux ont permis de confirmer que les trois modèles biophysiques permettent d'estimer les paramètres neurovasculaires avec assez de précision pour effectuer des comparaisons de groupe. Tous trois ont ainsi montré une diminution de la compliance des vaisseaux avec l'âge.

La troisième partie des travaux étudie un récent modèle de déconvolution de la réponse hémodynamique se basant sur les filtres de Kalman. Cette déconvolution permet d'estimer la réponse neuronale sur des enregistrements en continu au lieu d'étudier les valeurs moyennées. Les travaux montrent que la déconvolution de la réponse hémodynamique permet de bien estimer l'activité neuronale lorsque cette activité est produite par une stimulation externe. Lorsque l'on s'attarde seulement à l'activité neuronale spontanée (au repos), on observe que l'activité neuronale corrèle faiblement avec l'activité neuronale mesurée par électrophysiologie. Ces résultats indiquent qu'il faut être prudent dans l'interprétation qui est faite de l'activité neuronale spontanée obtenue par déconvolution.

ABSTRACT

The aim of this thesis is to measure changes in neurovascular parameters and in hemodynamic response in aging rats. The hemodynamic response is the process by which, following an increase of neuronal activity, the blood flow increase locally to follow the changes in metabolic activity from neural activity. Measuring the hemodynamic response is the key process of functional imaging and allows to monitor indirectly changes of neuronal activity through the neurovascular coupling. However, many physiological properties in the brain (flow, blood volume, vessel compliance, vascular density, etc.) may be modified during aging and affect neurovascular coupling. The thesis aims to better understand the changes in neurovascular coupling during aging and their effect measurements obtained in functional imaging.

In this work, changes in hemodynamic response were measured using an intrinsic optical imaging system (IOI) developed in the laboratory. This recent imaging technique is based on the absorption properties of the visible light in the cortex. The technique has a very good spatial resolution and low depth of penetration which makes it well suited to study brain activity in rats. In IOI, visible light illuminates the cortex and travels in the surface layer of the brain before being reflected at the surface of the cortex and measured using a CCD camera. In the journey through the cortex, a part of the light is absorbed by the two main chromophores present (hemoglobin and deoxyhemoglobin). Thus, changes in chromophore concentration can be determined through changes in light intensity. This allows to study the concentrations of oxygenated blood and deoxygenated. In addition to measures of IOI, the system simultaneously measures changes in blood flow through a laser speckle measurement technique.

The first part of the results then shows the changes in the hemodynamic response during aging. The main observations is that during aging we observe a decrease in the amplitude of the hemodynamic response and an increase in the activation time of the hemodynamic response. Age also produce changes of the hemodynamic response. Thus, the amplitude of the hemodynamic response decreases more slowly as a function of aging on the side ipsilateral to stimulation from the contralateral side.

The second part of the work studies neurovascular coupling using three different biophysical models. The three biophysical models can reproduce the different types of hemodynamic response found in our rats population. A comparison of models by log evidence did not found significative difference between the performance of the three models. However, the model-Boas Huppert that we developed has an advantage of finding neurovascular resting

state parameters. The work confirmed that the three biophysical models find neurovascular parameters with enough precision to do group comparisons. All three models have shown a decrease in compliance of vessels with age.

The third part of the work examines a recent model of deconvolution of the hemodynamic response based on Kalman filters. This deconvolution is used to estimate the neuronal activity for a complete recording sequence instead of working with averaged responses. The work shows that the deconvolution of the hemodynamic response gives a good estimated of neural activity when that activity is produced by external stimulation. When one focuses only on the spontaneous neuronal activity (at rest), we find that neuronal activity correlated weakly with neural activity measured by electrophysiology. This indicates that caution should be exercised in the interpretation that is made of spontaneous neuronal activity obtained by deconvolution.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ	iv
ABSTRACT	vi
TABLE DES MATIÈRES	viii
LISTE DES TABLEAUX	xiii
LISTE DES FIGURES	xiv
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xx
CHAPITRE 1 CONTEXTE GÉNÉRAL	1
1.1 Introduction	1
1.2 Brève revue de la littérature	2
1.2.1 Vieillissement et dynamique neurovasculaire	2
1.2.2 Mesure de la réponse hémodynamique	5
1.2.3 Modélisation	8
1.3 Objectifs	8
CHAPITRE 2 Théorie physiologie	12
2.1 Introduction	12
2.2 Réponse neuronale	13
2.2.1 Facteurs impliqués dans le couplage neurovasculaire	13
2.3 Structure des vaisseaux sanguins cérébraux	16
2.3.1 Propagation rétrograde de la vasorégulation	16
2.3.2 Effet du vieillissement	17
2.4 Électrophysiologie	17
2.5 Modélisation du couplage neurovasculaire	18
2.5.1 Fraction d'oxygène extrait	19
2.5.2 Consommation cérébrale d'oxygène	21
2.5.3 Linéarité du couplage neurovasculaire	21

CHAPITRE 3	Théorie imagerie	24
3.1	Introduction	24
3.2	Mesure des concentrations d'hémoglobine par IOI	25
3.3	Granularité laser	26
CHAPITRE 4	Méthodologie	28
4.1	Introduction	28
4.2	Préparation expérimentale	28
4.2.1	Préparation des animaux	28
4.2.2	Protocole d'illumination	29
4.2.3	Électrophysiologie	30
4.3	Analyse des données	31
4.3.1	Prétraitement des données (écrémage)	31
4.3.2	Traitement des données d'IOI	32
4.3.3	Extraction des concentrations d'hémoglobine	32
4.3.4	Analyse par granularité laser	33
4.4	Post-traitement	34
4.4.1	Choix des régions d'intérêt	34
4.4.2	Techniques d'élimination de bruit physiologique	34
4.5	Bruit	37
4.6	Observations utiles	37
4.6.1	Choix de l'anesthésiant	37
4.6.2	Utilisation ou non du pancuronium	37
4.6.3	Contrôle de la stimulation	38
4.6.4	Taux de succès des expériences d'IOI	39
4.7	Conclusion	40
CHAPITRE 5	Couplage cérébrovasculaire chez le rat Lou/c : un modèle de vieillissement réussi	42
5.1	Description de l'article	42
5.2	Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the Lou/c rat: a model of healthy aging	42
5.3	Abstract	43
5.4	Introduction	43
5.5	Material and methods	46
5.5.1	Animals and diet	46
5.5.2	Surgical procedure	47

5.5.3	Stimulation protocol	48
5.5.4	Optical recording	48
5.5.5	Electrophysiology	48
5.5.6	Image analysis	49
5.5.7	Spectroscopic optical imaging	49
5.5.8	Speckle imaging	49
5.5.9	Grubb's exponent	50
5.5.10	Cerebral metabolic rate of oxygen consumption	50
5.5.11	Statistical analysis	51
5.6	Results	51
5.6.1	General	51
5.6.2	Amplitude of the cerebral hemodynamic response as a function of age .	52
5.6.3	Activation time	52
5.6.4	Impact of sex and weight	55
5.6.5	Ipsi/Contralateral response	55
5.6.6	Spatial extent and aging	58
5.6.7	Hemodynamic ratios and Grubb's exponent	58
5.7	Discussion	60
5.8	Conclusion	63
5.9	Acknowledgements	63
	Bibliography	64

CHAPITRE 6	Estimation des paramètres neurovasculaires à l'aide de modèles biophysiques dans un modèle réussi du vieillissement chez le rat	71
6.1	Description de l'article	71
6.2	Biophysical model estimation of neurovascular parameters in a rat model of healthy aging	72
6.3	Abstract	72
6.4	Introduction	72
6.5	Methods	75
6.5.1	Models and parameter estimations	75
6.5.2	Priors estimation	80
6.5.3	Validation of parameter estimability in simulations	80
6.5.4	Experimental recordings	81
6.5.5	Hemodynamic data analysis	81
6.5.6	Statistical analysis	82

6.6	Results	83
6.6.1	Simulations for parameter estimability	83
6.6.2	Parameter estimations of Y, O and VO rats	83
6.7	Discussion	87
6.7.1	Estimate of oxygen extraction	90
6.7.2	Estimate of Grubb exponent α	90
6.7.3	Estimate of baseline oxygen saturation S_{wO_2}	91
6.7.4	Bayesian estimation	91
6.7.5	Limitations	92
6.8	Conclusion	93
6.9	Apendice: Normalized form of the different biophysical models	93
6.9.1	Buxton-Friston model	93
6.9.2	Zheng-Mayhew model	94
6.9.3	One compartment Windkessel model	94
	Bibliography	100

CHAPITRE 7 La deconvolution neurovasculaire reflète-t-elle vraiment l'activité neuro- nale?

7.1	Présentation de l'article	107
7.2	Does neurovascular deconvolution reflect the true neuronal inputs?	108
7.3	Résumé du filtre de Kalman	108
7.4	abstract	109
7.5	Introduction	110
7.6	Methods	112
7.6.1	Review of SCKS and parameter estimations	112
7.6.2	Surgical procedures	113
7.6.3	Data acquisition	114
7.6.4	Data processing and selection	115
7.6.5	Sensitivity-specificity analysis	116
7.7	Results	116
7.7.1	Evaluation of estimated neural input and neural measures with stimu- lation protocol as gold standard	116
7.7.2	Evaluation of SCKS estimated inputs with neural measures as gold standard	117
7.7.3	Effects of window size and of thresholds for neuronal measures as gold standard	119

7.7.4	Other effects: group vs individual hemodynamic priors, ipsi vs contra-lateral cortex, use of flow data, physiological noise removal	123
7.7.5	Evaluation of SCKS reconstructed states	123
7.8	Discussion	126
7.8.1	Application to spontaneous neural fluctuations	126
7.8.2	Effects of the different detection measures	127
7.8.3	Limitations	127
7.9	Conclusion	128
7.10	appendix A: Buxton-Friston model	128
7.11	appendix B: Details on SCKS	129
	Bibliography	132
CHAPITRE 8 DISCUSSION GÉNÉRALE		136
8.1	Performance du montage	136
8.1.1	Diodes	137
8.1.2	Synchronisme	138
8.1.3	Électrophysiologie	138
8.2	Article #1	138
8.2.1	Physiologie	138
8.3	Article #2	140
8.3.1	Comparaison des modèles	140
8.3.2	Validation/Prédiction	141
8.3.3	Pertinence	142
8.4	Article #3	142
8.4.1	Résultats de groupes	142
8.4.2	Oscillation	143
8.4.3	Contra-ipsi	143
8.4.4	Caractérisation de l'erreur	144
CHAPITRE 9 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		145
9.1	Synthèse des travaux	145
9.2	Limites de la solution proposée	145
9.3	Améliorations futures	146
9.3.1	Expérience future	147
RÉFÉRENCES		149

LISTE DES TABLEAUX

Table 5.1	Age, sex, weight and heart rate (beat/min) of LOU rats used in the imaging experiments. Heart rate was averaged over the experiment time period. Data were expressed as means \pm SD	51
Table 5.2	P-values for mixed two-way ANOVAs accounting for age and sex. Bold values are significant. Data were expressed as means \pm SD	57
Table 6.1	Parameters and units for the Buxton-Friston (B-F), Zheng-Mayhew (Z-M includes B-F parameters) and Boas-Huppert (B-H) models. The first estimate of $\hat{\alpha}_j$ was performed on a wide non-informative distributions with values taken from the literature B-F (Friston, 2000; Zheng et al., 2002), Z-M (Zheng and Mayhew, 2009) and B-H (Huppert et al., 2007).	78
Table 6.2	For each model: (Top) error ϵ_i for 1000 simulations (mean \pm SD), for different levels of noise (100% , 33% and 10% of the actual noise level measured in our experiments). All errors expressed as percent change relative to simulated value. (Bottom) Mean quadratic error for the 1000 simulations.	84
Table 6.3	Age group comparison for the 3 models: Estimated parameters and priors (mean \pm SD). Notation for statistical significance: bold : $P < 0.01$; <u>underlined</u> : $P < 0.05$	89
Table 6.4	Constants and units used in the derivations above.	99
Table 6.5	Definitions of the physiological parameters that were not optimized with their units and values. The sign $\#$ indicate that these values were not fixed but derived from previously defined parameters. The values were taken from Huppert et al. (2007), except for the solubilities γ_p and γ_t , which were both approximated by the solubility of O_2 in water due to sparse and discordant literature values.	99
Table 7.1	ROC areas and SD of SCKS estimated input for base case and 4 other deconvolution variants (columns), for stimulations, LFPs over whole experiment and LFPs excluding stimulation (ex. stim.) periods as truth. Significance of paired T-test with respect to column 1: *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$	124

LISTE DES FIGURES

FIGURE 2.1	Exemple de réponse hémodynamique mesurée dans le cortex sensorimoteur suite à une stimulation de la patte	13
FIGURE 2.2	Relation entre les neurones, les astrocytes et la vasculature. Lors d'activité neuronale, les neurotransmetteurs (le principal étant le glutamate) sont relâchés dans l'espace synaptique. Les astrocytes jouent un rôle central dans le contrôle des concentrations ioniques et des neurotransmetteurs et servent de lien entre l'augmentation de l'activité neuronale et les changements des propriétés vasculaires. Figure tirée de D'Esposito et al. (2003).	15
FIGURE 2.3	Relation entre les cellules, la vasculature, les muscles lisses, les neurones et les astrocytes. Figure tirée de Girouard and Iadecola (2006).	16
FIGURE 2.4	Enregistrement de l'activité neuronale à l'aide d'une microélectrode. La composante haute fréquence représente un potentiel d'action (<i>spikes</i>). La composante basse fréquence représente le potentiel local (<i>LFP</i>). Figure tirée de Iadecola (2004).	19
FIGURE 2.5	Modèle de Buxton du couplage neurovasculaire. A) Diagramme de la réponse hémodynamique (extrait partiel d'une figure tirée des travaux de Buxton et al. (2004)). B) Diagramme imagé de la réponse hémodynamique.	20
FIGURE 2.6	Non-linéarité dans le couplage neurovasculaire pour différentes durées de stimulations électriques. Gauche : réponse neuronale (SEP : potentiel évoqué). Centre : Réponses neuronales alignées par rapport à la stimulation électrique. Droite : réponse hémodynamique. Pour de longues stimulations, la réponse culmine à environ 4 s pour redescendre à un plateau. Figure tirée de Franceschini et al. (2008).	23
FIGURE 3.1	Spectre d'absorption des molécules d'oxyhémoglobine et de déoxyhémoglobine et spectre d'émission des diodes électroluminescentes utilisées dans le montage d'IOI.	26
FIGURE 3.2	Profil de sensibilité obtenu en imagerie optique intrinsèque. Figure tirée de Hillman (2007).	26

FIGURE 4.1	Exemple de bruit dans les signaux de réflectance $\Delta R/R_0$ mesuré pour une illumination rouge (637 nm). Haut : signal très bruité et possédant de fortes oscillations à environ 0.1 Hz. Bas : signal très peu bruité où le moyennage est à peine nécessaire pour avoir un bon RSB.	30
FIGURE 4.2	Bruit mesuré pour le signal de réflectance $\Delta R/R_0$ pour une illumination rouge (637 nm). Les données proviennent de tous les rats LOU utilisés dans les chapitres 5 et 6. Le bruit est donné par l'erreur standard σ/\sqrt{n} où n représente le nombre de stimulations effectuées, soit habituellement 40 stimulations par rat.	30
FIGURE 4.3	Aperçu du système d'illumination et d'acquisition.	30
FIGURE 4.4	Effet de la taille (en mm ²) d'une RI en granularité laser. Gauche : Courbe de débit mesurée pour différentes tailles de RI. Droite : Erreur d'une mesure de débit (l'erreur est calculée en effectuant l'écart-type de 23 stimulations consécutives sur un même rat).	35
FIGURE 4.5	Effet du choix de la région d'intérêt sur la forme de la réponse hémodynamique. Les résultats montrent qu'une RI plus grande diminue l'amplitude mais ne diminue pas la forme de la réponse. Les veines ont une réponse décalée dans le temps. — Les mesures sont effectuées pour : 1) une RI de dimension régulière sans vaisseau sanguin, 2) une RI deux fois plus grande que la RI habituelle sans les vaisseaux sanguins 3) les veines près de la RI de dimension régulière.	35
Figure 5.1	Overview of the imaging and stimulation system. LEDs and the laser diode are synchronized to the acquisition system so that each image corresponds to either a single wavelength or laser illumination for speckle.	47

- Figure 5.2 A) Anatomical image recorded with illumination at 525 nm. Black dot correspond to Bregma, bar: 1 mm. Red concentric circles refer to response data shown in D. B) Cerebral blood flow (CBF, speckle contrast), HbO, HbR and HbT images after a forepaw stimulus (1s duration, $t=0$ s correspond to the onset of stimulation). The color scale is expressed as percentage signal change relative to prestimulus baseline ($\Delta R/R_0$, or $\Delta C/C_0$ for flow). Time (in seconds) relative to stimulus onset is indicated above the images. Forty trials were averaged. We assumed baseline concentrations of 60 and 40 μ M for HbO and HbR, respectively. C) Typical temporal profiles of blood flow, HbO, HbR, and HbT changes (% of baseline) for the region of activation in response to 1 s forepaw stimulus ($t=0$ s indicates stimulation onset). Data were expressed as means \pm SEM of 29 rats. D) HbO response at different distances from the center of activation in a single animal (circles shown in A). The black bar represents the stimulation period. 53
- Figure 5.3 A-B) Maximum amplitude change in the region of activation following forepaw stimulation. 1s 3Hz 0.3 ms pulses and 10s 3Hz 0.3 ms pulses respectively. C) Definition of amplitude and activation time (arrows) in a typical signal. D-E) Time to reach half of the maximum response following forepaw stimulation. 1s 3Hz 0.3 ms and 10s 3Hz 0.3 ms pulses respectively. F) Typical SEP recorded during 2 second stimulation at 3 Hz. Inset, zoom showing the electrical stimuli artifact and the SEP response. Bottom: Activation time of the SEP response as a function of age Anova: τ : $P < 0.05$ $\tau\tau$: $P < 0.01$. Group comparaisou (Tukey-Kramer HSD) *: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Data were expressed as means \pm SEM 54

Figure 5.4	<p>A) HBO response following 1s stimulation (Error bars represent standard error of the mean across animals n=29). Left: ipsi and contralateral responses at sites of maximal activation. B): Changes in cardiac rhythm (averaged over stimulations) showing changes less than 0.15% in cardiac rhythm, i.e. not discernible, following forepaw stimulation. Data were expressed as means \pm SEM of 29 rats C): Maximal amplitude of the HBO response (percent change) following forepaw stimulation in both ipsi and contralateral regions (1s stimulation 3 Hz, 0.3 ms). D): HbO response ratio Ipsi/Contra for the region having the maximum amplitude on each side and for a region having the median response on each side of the brain. ANOVA: τ : $P < 0.05$ $\tau\tau$: $P < 0.01$. Group comparison (Tukey-Kramer HSD) *: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Data were expressed as means \pm SEM</p>	56
Figure 5.5	<p>A) Calculated spatial extent (in percent of the recorded contralateral region) of each hemodynamic parameter. B) Representative data of the spatial extent for HBO in three age groups. C-D) Hemodynamic parameters response amplitude ratio for the region of activation: 1s 3Hz 0.3 ms and 10s 3Hz 0.3 ms. E-F) Grubb's exponent and n (CBF/CMRO₂ ratio) as a function of aging evaluated in steady state (stim: 10s 3Hz 0.3 ms). . Statistic: Anova: τ : $P < 0.05$ $\tau\tau$: $P < 0.01$. Group comparison (Tukey-Kramer HSD) *: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Data were expressed as means \pm SEM</p>	59
Figure 6.1	<p>Representation of the Boas-Huppert biophysical model. The lumped parameter model depicts a single compliant vascular balloon integrating the hemodynamic response of all microvessels contained in an imaging voxel. In the vascular model, arterial resistance and volume are used to calculate resistance, blood volume, pressure, and flow changes in the balloon from mechanical relations between those physical quantities. The oxygen model describes oxygen diffusion from intra- to extra-vascular space based on flow, volume and oxygen concentration gradient.</p>	77
Figure 6.2	<p>Overview of the methodology for the estimation of model parameters within the Bayesian framework.</p>	79

Figure 6.3	Simulated data (full line) and effect of a -33% (dotted line) and $+50\%$ (dashed line) change in the parameters of the Z-M model on the response for CBF (black), HbT (green) and HbR (blue). The two parameters τ_w and b have a small influence on the shape of the hemodynamic curves.	85
Figure 6.4	Correlation matrix formed from the pairwise correlation of the errors ϵ_i for the (A) B-F, (B) Z-M and (C) B-H models. In all models, correlations are observed between flow inducing and decay rate constants. Other parameter pairs are mostly well decorrelated.	86
Figure 6.5	A) Anatomical image recorded with illumination at 525 nm. White dot corresponds to bregma. Reddish blob in upper right corner: ROI of maximal activation (with arteries and veins carefully removed from the ROI). Black bar: 1 mm. B) Average hemodynamic response (HbR(blue), HbT(green), CBF(black)) for the three age groups.	86
Figure 6.6	A) Error and B) Log-evidence measured for the three models. N=30 rats, after electric forepaw stimulation. Error bars represent standard deviation. C) Typical experimental hemodynamic response for one rat for HbR(blue), HbT(green) and CBF(black) and estimated fits for three models (mean quadratic error of the fit: $4.1 \cdot 10^{-6}$). Black bar: electric forepaw stimulation (0.3 ms at 3 Hz during 1 s).	88
Figure 6.7	Example of simulated curves for CBF (black), HbO (red), HbT (green) HbR (blue) from the Buxton-Friston Model using values for the parameter τ extracted from the different age groups.	88
Figure 7.1	A. Fit obtained from SCKS overlaid over the measured hemodynamic response for HbR, HbT and flow. B. Representative sample over a 300 s window of SCKS estimated input and associated detections. LFPs and MUAs for the same time course shown below. Onset and duration of electrical stimulations (1, 5 or 15 s) shown as thick horizontal black bars. Vertical axis in arbitrary units. Symbols for true positives (TP), false positives (FP), false negatives (FN) and true negatives (TN) set in middle of 4 s windows used detections. Detection threshold chosen shown as thin horizontal black lines, with 85% of true positives for whole time course (3500 s). C. 80 s zoom of Fig. 1A further showing fit accuracy.	118

- Figure 7.2 ROC curves (parameterized by detection threshold) and areas for LFP(low), LFP(high), MUA and SCKS estimated input, with electrical stimulations defining truth. A. ROC curves for best recording (one rat). B. Distributions of ROC areas for group of 9 rats. Median, minimum, maximum, and 25th and 75th percentiles shown with boxplots. 119
- Figure 7.3 ROC curves and areas for best two recordings for detection with SCKS inputs as signals, based on different measures of neural activity activity as GS (LFP(low), LFP(high), MUA), A. over whole experiment and B. only over windows excluding stimulations (for “spontaneous” activity). Individual rats labeled by curves of different colors. For these 2 rats, A. little difference between neural measures and stimulations as truth and B. for spontaneous activity, areas were lower, but better than chance. At group level, similar results were found for ROC area with SCKS inputs as detection signal and neural activity activity as GS: C. over whole experiment and D. excluding stimulation periods. SCKS estimated input ROC areas were lower (slightly for LFP(low) as truth) when using neural measures as GS than when using electrical stimulations. Excluding stimulation periods however, ROC areas were even lower by an additional 10%. For most rats, detectability of spontaneous activity was better than chance alone. LFP(low) was best performer among neural measures over whole experiment and during rest periods. 120
- Figure 7.4 A. Effect of detection window size on group mean ROC areas and SD, for periods of 1 s stimulations (see text). Optimal window size was 1.6 s based on mean, but results were mostly insensitive to choice of window size. B. Effect of GS detection threshold on ROC area. Truth threshold defined as multiple of standard deviations from mean truth signal, for detections over periods in-between stimulations. Threshold of 1 SD above mean (used for Fig. 7.3) viewed as optimal. Finally (see text), effect of signal detection threshold on C. positive predictive value (PPV) and D. number of true positives. 122
- Figure 7.5 For 1 s (left), 5 s (middle) and 15 s (right) stimulations, A. HbR response measured, reconstructed by LFP(low) via the B-F model and by SCKS deconvolution, and B. Neuronal signals for LFP(low) and MUA and SCKS reconstructed signal $u(t)$. Error bars: SD. 125

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Liste des abréviations générales	Abréviation	Abréviation usuelle anglaise
Marquage de spins artériels, (<i>Arterial spin labelling</i>)		ASL
Signal dépendant du niveau d'oxygénation cérébrale, (<i>Blood-oxygen-level dependence</i>)	BOLD	BOLD
Caractéristique de fonctionnement du récepteur, (<i>Receiver operating characteristic</i>)	CFR	ROC
Consommation cérébrale d'oxygène, (<i>Cerebral metabolic rate of oxygen</i>)	CMRO ₂	
Consommation cérébrale de glucose, (<i>Cerebral metabolic rate of glucose</i>)	CMRGlu	
Dérivés réactifs de l'oxygène, (<i>Reactive oxygen species</i>)	DRO	ROS
Débit sanguin cérébral, (<i>Cerebral blood flow</i>)	DSC	CBF
Changement de concentration d'oxyhémoglobine (en %)	HbO	
Changement de concentration de déoxyhémoglobine (en %)	HbR	
Changement de concentration d'hémoglobine totale (en %)	HbT	
Concentration d'oxyhémoglobine (en $\mu\text{mol/L}$)	[HbR]	
Imagerie optique diffuse, (<i>Diffuse optical imaging</i>)	IOD	DOI
Imagerie optique intrinsèque	IOI	
Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle	IRM-F	MRI-f
Fraction d'oxygène extraite, (<i>Oxygen extraction fraction</i>)	OEF	
Pression partielle d'oxygène dans le tissu	P _{t,O2}	
Potentiel d'action, (<i>Spike</i>)	PA	
Potentiel évoqué, (<i>Sensory evoke potential</i>)	PE	SEP
Région d'intérêt, (<i>Region of interest</i>)	RI	ROI
Rapport signal bruit, (<i>Signal-to-noise ratio</i>)	RSB	SNR
Tomographie par émission de positrons, (<i>Positron emission tomography</i>)	TEP	PET
Volume sanguin cérébral	VSC	CBV

 Liste des symboles mathématiques

longueur d'onde	λ
Concentration de chromophore	C_i
Coefficient molaire d'extinction de la lumière	ε
facteur de distance optique,(<i>path length factor</i>)	D_a
Densité optique, (<i>optical density</i>)	OD
contraste d'une tavelure laser	C

 Liste des groupes

Groupe sous restriction calorique	RC
Groupe <i>ad libidum</i>	AL
Groupe jeune	Y
Groupe vieux	O
Groupe très vieux	VO

CHAPITRE 1

CONTEXTE GÉNÉRAL

1.1 Introduction

Cette thèse a été effectuée au département de génie électrique de l'École Polytechnique de Montréal sous la direction du professeur Frédéric Lesage, de la codirection de Guylaine Ferland, professeure au département de nutrition de l'Université de Montréal, et de la codirection d'Éric Beaumont, chercheur au centre de recherche de l'Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal.

Le vieillissement a de nombreuses conséquences cérébrales, tant du point de vue des modifications des propriétés physiques et chimiques que comportementales. Les effets les plus marquants se trouvant dans les maladies dégénératives telles les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. Dans le cadre du vieillissement, on sait depuis plus de 70 ans que la restriction calorique augmente l'espérance de vie maximale et moyenne chez le rat (Osborne et al., 1917). Depuis ce temps, de nombreuses études ont montré que la restriction calorique en plus d'augmenter l'espérance de vie réduit les effets de la sénescence (Masoro, 2005). Ainsi, une alimentation avec restriction calorique (ou un jeûne intermittent) de même qu'avec un supplément de vitamine K (VK) ont des effets protecteurs en regard des altérations neurocognitives associées à la sénescence. De nombreux modèles de restriction calorique existent chez le rat et d'autres animaux, et se basent habituellement sur une limitation de la quantité de nourriture offerte à l'animal. Ces techniques ne sont pas idéales pour le bien-être de l'animal. Alternativement, une autre façon d'étudier l'effet d'une faible consommation calorique est d'utiliser le rat LOU comme modèle animal. Le rat LOU, une dérivation du Wistar, a une faible consommation calorique naturelle et a une espérance de vie comparable aux rats sous restriction calorique. Ses performances cognitives avec l'âge sont préservées (Kollen et al., 2010) et il représente donc un modèle animal de vieillissement réussi.

Les changements physiologiques associés au vieillissement mènent à des pertes cognitives. Les mécanismes sous-jacents sont encore mal compris et notre objectif est donc de mieux comprendre comment le vieillissement agit sur le changement d'activité neuronale suite à une stimulation et comment le système vasculaire cérébral répond à cette stimulation. Il est donc pertinent d'avoir une technique permettant de suivre les changements neuronaux et neurovasculaires au cours du vieillissement.

Parmi les techniques souvent employées pour mesurer les changements d'activité neuro-

nale et vasculaire chez l'humain, on peut mentionner l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRM-F) qui permet d'obtenir des cartes 2D et 3D d'activation cérébrale. Cette technique se base sur des mesures des propriétés magnétiques et mesure principalement des changements de déoxyhémoglobine. L'imagerie optique diffuse (IOD) est une technique basée sur l'absorption lumineuse. Elle mesure des changements de déoxyhémoglobine et d'oxyhémoglobine mais possède une très faible résolution spatiale. Ces techniques mesurent des changements hémodynamiques, et permettent de comparer l'activité neuronale si on fait l'hypothèse que l'activation neuronale produit une réponse hémodynamique qui est reproductible entre différents individus. Les résultats des dernières années montrent que l'âge produit entre autres une diminution du volume veineux (Lynch et al., 1999) et du débit sanguin au repos (Ances et al., 2009). On observe aussi une modification de la forme du signal dépendant du niveau d'oxygénation cérébrale (BOLD *Blood-oxygen-level dependence*) (Ances et al., 2009) et une plus grande variabilité de la réponse BOLD avec l'âge (D'Esposito et al., 1999). Ainsi, pour comparer l'activité neuronale, à travers le signal BOLD de deux populations d'âges différents, les changements de propriétés physiologiques doivent être bien connus et pris en considération sous peine de produire des erreurs d'interprétation des mesures d'IRM.

Une autre technique souvent utilisée est l'imagerie optique intrinsèque (IOI). Cette technique, grâce à de bonnes résolutions spatiale et temporelle, permet des mesures de débit sanguin, d'oxyhémoglobine et de déoxyhémoglobine au prix d'une faible profondeur de pénétration (environ 1 mm). L'IOI requiert donc d'imager à cerveau ouvert et est bien adaptée à la recherche sur de petits animaux. Elle permet d'observer, à l'aide de plus de marqueurs que l'IRM-f et l'IOD, les différents changements neurovasculaires liés au vieillissement. L'hypothèse générale de recherche de ces travaux est que l'utilisation de plusieurs marqueurs vasculaires mènera à une meilleure compréhension des changements neurovasculaires au cours du vieillissement et pourrait aider à interpréter les résultats obtenus par des techniques non-invasives chez l'humain.

L'objectif de la recherche est d'observer par IOI les changements vasculaires liés au vieillissement dans plusieurs modèles de vieillissement et d'en extraire des marqueurs quantitatifs permettant de déterminer les effets cérébro-vasculaires de la sénescence et l'influence des modifications alimentaires sur ces derniers.

1.2 Brève revue de la littérature

1.2.1 Vieillissement et dynamique neurovasculaire

De nombreuses études ont démontré des dégradations de la structure et du fonctionnement cérébral suite au vieillissement. Ces dégradations se produisent simultanément à une diminu-

tion du débit sanguin cérébral (DSC) et sont présentes dans les maladies neuro-dégénératives telles l'Alzheimer (de la Torre, 2000; Girouard and Iadecola, 2006). Du point de vue neuronal, contrairement à la croyance populaire, de récentes études montrent que le nombre de neurones demeure constant avec l'âge (Rasmussen et al., 1996; Grill and Riddle, 2002). Malgré cela, d'autres études montrent une réduction de la densité synaptique (Grill and Riddle, 2002; Riddle et al., 2003) et un déclin de la synthèse et du relâchement de neurotransmetteurs (Lynch et al., 1999) au cours du vieillissement. Ces altérations auraient une influence directe sur le déclin des performances cognitives. Des études utilisant la tomographie par émission de positrons (PET) ont montré une diminution de l'activité métabolique (CMRO₂, *cerebral metabolic rate of oxygen*) et du DSC avec l'âge (Yamaguchi et al., 1986; Takada et al., 1992; Marchal et al., 1992). L'origine de ces diminutions est toutefois incertaine (Bentourkia et al., 2000; Tumeh et al., 2007). Une première hypothèse (neuronale) veut qu'une diminution de l'activité neuronale au cours du vieillissement produise une diminution de l'activité métabolique et de la consommation d'énergie entraînant une diminution de la densité capillaire (Argandona and Lafuente, 2000). L'hypothèse vasculaire est toutefois plus commune et suppose que le déclin des performances cognitives est le produit d'altérations vasculaires. Dans cette hypothèse, les problèmes de circulation amènent une diminution de l'apport en oxygène et des performances cognitives (Cada et al., 2000) et augmentent les risques de maladies neurodégénératives telles l'Alzheimer (Ajmani et al., 2000; Crawford, 1998). Expérimentalement, une diminution de DSC, induite par des occlusions des carotides, provoque une diminution de l'activité cérébrale, des dommages neuro-métaboliques, des modifications du comportement (Cada et al., 2000) et augmente les risques de sclérose en empêchant la dilatation des artères (He et al., 1997). En plus de changer le débit cérébral de base (Ajmani et al., 2000), l'âge diminue la réactivité des vaisseaux à l'hypercapnie (Gatto et al., 2007) ou à une demande neuronale produite par des stimulations électriques (Sorond et al., 2008) ou visuelles (Niehaus et al., 2001; Ances et al., 2010).

L'origine du changement de DSC avec l'âge peut s'expliquer par une augmentation de la pression sanguine cérébrale, de la densité capillaire (Zoccoli et al., 2000; Farkas and Luiten, 2001; Riddle et al., 2003; Farkas et al., 2006; Sen et al., 2007) et du nombre d'artéioles (Sonnag et al., 1997). L'âge modifie aussi la concentration de plusieurs substances impliquées dans le contrôle du DSC (BaCl₂, adénosine, bradikinine, nicotine, sérotonine, acétylcholine), pour une revue détaillée, voir Riddle et al. (2003). L'âge semble aussi changer les propriétés physiques des artéioles : 1) en augmentant l'épaisseur de la média, 2) en augmentant la proportion de matériaux faiblement élastiques tel le collagène par rapport aux matériaux plus élastiques (muscle lisse, élastine) et 3) en changeant les propriétés physiques (compliance, diamètre) des artéioles (Moody et al., 1997; Moreau et al., 1998; Matz et al., 2000; Riddle

et al., 2003; D’Esposito et al., 2003; Farkas et al., 2006). Certaines études supportent l’hypothèse que la diminution de la capacité cérébrale proviendrait d’une incapacité du cerveau à produire de nouveaux vaisseaux avec l’âge ou d’une diminution par les capillaires de facteurs neurotrophiques supportant les fonctions et la structure neuronale (Sonntag et al., 1997; Lynch et al., 1999).

L’âge a donc une influence marquée sur plusieurs processus impliqués dans la réponse neurovasculaire. Pour mesurer l’activité neuronale grâce à la réponse hémodynamique il faut être en mesure de déterminer : 1) Comment la densité des artérioles et des capillaires diminue avec l’âge et comment leur morphologie change avec l’âge. 2) Comment ces altérations modifient la réponse hémodynamique au cours du vieillissement. La réponse à ces questions permettra de mieux interpréter les mesures d’activité neuronale obtenues à travers l’enregistrement de la réponse hémodynamique.

1.2.1.1 Restriction calorique

Effectuées depuis le début du 20^e siècle, les premières études sur la restriction calorique ont montré qu’elle permet de retarder les effets du vieillissement. La restriction calorique (RC), qui consiste en une diminution de l’apport calorique de 40% par rapport à une alimentation *ad libidum* (AL) tout en offrant la même quantité de vitamines et minéraux, produit des effets bénéfiques à travers une diminution du nombre de calories et non à travers une diminution d’une substance particulière (Masoro, 2005). Les rats soumis à une RC maintiennent un poids plus faible, ont une espérance de vie moyenne et maximale plus longue et un retard des effets de la sénescence (Yu, 1996; Masoro, 2005). La RC augmente la variabilité du rythme cardiaque (indicateur de la santé cardio-vasculaire), diminue la pression sanguine (Mattson and Wan, 2005) et produit une plus faible sensibilité au stress oxydatif (Lee and Yu, 1990; Leenders et al., 1990; Sohal and Weindruch, 1996; Yu, 1996; Masoro, 2005). Les rats sous RC ont aussi une plus grande sensibilité à l’insuline ce qui provoque une diminution des concentrations de glucose et d’insuline sanguine et une plus grande tolérance au glucose (Masoro et al., 1992; Anson et al., 2003; Heilbronn and Ravussin, 2003). D’un point de vue cognitif, les rats sous RC ont une meilleure mémoire, de meilleures performances cognitives et ont une moins grande susceptibilité au stress (Mattson et al., 2002). Du point de vue cérébrovasculaire, les rats sous RC subissent une plus faible diminution de la densité capillaire que les rats AL du même âge (Lynch et al., 1999); cela entraînerait un plus grand débit sanguin de base chez les rats RC par rapport aux rats AL (Lynch et al., 1999). De plus, la RC améliore les propriétés angiogéniques et vasoprotectrices des artères par rapport à une alimentation AL probablement par une réduction du stress oxydatif sur les artères (Guo et al., 2002; Facchetti et al., 2007; Ungvari et al., 2008). Un régime consistant en une réduction de la fréquence

des repas (ex. une journée sur deux) produit des effets similaires à la RC (Anson et al., 2003; Mattson and Wan, 2005). L'explication la plus courante des bénéfices associés à la RC provient du stress oxydatif. La RC, à travers une diminution générale du métabolisme et de la consommation d'oxygène (Ferguson et al., 2007), réduirait la production de radicaux libres dans les mitochondries et les dommages qui y sont associés (Sohal and Weindruch, 1996; Heilbronn and Ravussin, 2003).

1.2.1.2 Rat LOU

La RC demeure toutefois un régime alimentaire imposé où les animaux sont en manque constant de nourriture. Les rats sont constamment affamés, ont une tendance à l'hyperphagie lorsque de la nourriture est présentée (Seidel et al., 2006), ont un niveau d'activité différent (Thanos et al., 2008) et ont des réponses neurales différentes face à un stimuli de nourriture (Thanos et al., 2008). Ces facteurs peuvent produire un biais important lors de l'analyse des résultats puisqu'il est difficile de déterminer si un même stimuli produit une même réponse cérébrale. Dans ce cas, il est intéressant d'étudier des rats qui sont connus pour leur prédisposition à une faible consommation calorique, ce qui est le cas des rats LOU_{/C/RQRV} provenant d'une sous-colonie de la colonie LOU_{/C} (*Inbred albino Louvain*). Ces rats ont un plus faible apport calorique naturel produisant des effets très semblables à ceux produits par la RC chez des rats normaux. Le faible apport calorique se traduit par une plus grande sensibilité à l'insuline (Perrin et al., 2003; Veyrat-Durebex et al., 2009), une plus faible masse, une plus grande longévité (Alliot et al., 2002; Veyrat-Durebex et al., 2009), une plus faible perte osseuse (Duque et al., 2009), une plus faible incidence des maladies associées au vieillissement et des performances cognitives améliorées par rapport aux rats Wistar de même âge (Kollen et al., 2010). Les rats LOU_{/C} sont donc considérés comme un modèle de vieillissement réussi. À notre connaissance, une étude a permis d'observer la capacité ventilatoire des rats LOU_{/C} avec l'âge (Soulage et al., 2004), mais aucune étude n'a encore été effectuée sur la réponse hémodynamique ou neuronale de ce modèle de vieillissement réussi.

1.2.2 Mesure de la réponse hémodynamique

Durant la réponse hémodynamique, suite à une augmentation de l'activité neuronale, les artéioles se dilatent et produisent une augmentation du débit sanguin artériel (à forte concentration en sang oxygéné, HbO). Cette dernière entraîne une augmentation du volume sanguin total et une diminution de la concentration de sang désoxygéné (HbR) par dilution. Cette réponse hémodynamique permet de renouveler les substances utilisées lors de l'activité neuronale. Puisque les changements de la réponse hémodynamique sont plus faciles à mesurer

que les changements d'activité neuronale, de nombreuses techniques d'imagerie estiment cette dernière à travers les changements hémodynamiques observés. En 1986, Fox and Raichle (1986) ont montré qu'il existe une forte corrélation entre le DSC au repos et le CMRO₂. Toutefois, sous stimulation, ils ont aussi montré que l'augmentation du DSC (29%) était beaucoup plus importante que l'augmentation du CMRO₂ (5%), indiquant un couplage non linéaire entre l'activité neuronale et le débit sanguin.

1.2.2.1 IRM

L'IRM-f est utilisée depuis plusieurs années pour observer l'activité neuronale en mesurant la localisation de la réponse hémodynamique par une mesure non-invasive. L'ASL (*Arterial spin labelling*) permet de suivre directement le déplacement des molécules (sang) tandis que la mesure BOLD se base sur le signal qui est principalement produit par des changements de concentration locale de déoxyhémoglobine (HbR). L'IRM-f suppose un couplage étroit entre l'activité neuronale, l'activité métabolique et la réponse hémodynamique, mais plusieurs facteurs peuvent affecter ce couplage (pour une revue voir Gsell et al. (2000) et Heeger and Ress (2002)). Aguirre et al. (1998) a montré que le signal BOLD était semblable pour un individu imagé à plusieurs journées d'intervalle, mais variait sensiblement entre deux individus. Les changements de DSC suite à l'activation neuronale semblent aussi être affectés par le DSC au repos (Ances et al., 2001).

Chez les personnes âgées, suite à des stimulations somato-sensorielles, la taille des régions où de l'activité neuronale a pu être détectée était 4 fois plus petites que chez les jeunes, le rapport signal bruit RSB des personnes âgées était plus élevé et la variabilité entre les individus était plus grande que chez les jeunes (D'Esposito et al., 1999). Ances et al. (2009) a mesuré une diminution DSC de base et de la réponse BOLD avec l'âge, pourtant les changements en pourcentage de CMRO₂ et de DSC sous stimulation sont identiques chez les personnes jeunes et âgées, ce qui indique que la réponse BOLD est affectée par le DSC au repos. Restom et al. (2007) obtient des résultats similaires mais mesure une augmentation du DSC (en pourcentage) en fonction de l'âge. On a aussi observé que lors de stimulations nerveuses, le signal BOLD retourne à la normale plus lentement chez les sujets vieux que chez les jeunes (Richter and Richter, 2003) et que le lieu d'activation de la réponse BOLD est déplacé en fonction de l'âge (Raemaekers et al., 2006).

Ainsi, de nombreux facteurs (débit de base, densité vasculaire, réactivité vasculaire, modifications de neurotransmetteurs etc.) impliqués dans la réponse BOLD peuvent interférer dans l'interprétation des mesures BOLD effectuées chez des populations d'âges différents (voir les revues de D'Esposito et al. (2003) et Iadecola (2004)).

1.2.2.2 Imagerie optique

Deux modalités d'imagerie optique, l'imagerie optique diffuse (IOD) et l'imagerie optique intrinsèque (IOI) mesurent aussi les changements d'activité neuronale à travers les changements de concentration dans le sang. Toutefois, le signal, au lieu de se baser sur l'aimantation des molécules de déoxyhémoglobine comme dans la réponse BOLD, se base sur les propriétés d'absorption de la lumière des molécules d'oxyhémoglobine (HbO) et de déoxyhémoglobine (HbR).

L'IOD, mesure les changements d'intensité de la lumière infrarouge en transmission. Sa grande profondeur de pénétration est utile pour les enregistrements chez l'humain. Elle a permis entre autres de mesurer l'oxygénation dans le cerveau d'enfants néonataux (Durduran et al., 2004a) et de quantifier les changements hémodynamiques chez des sujet ayant subi des lésions cérébrales (Palmer et al., 2010) et des accidents cérébrovasculaires (Kato et al., 2002).

L'IOI mesure les changements d'intensité de la lumière visible. La faible profondeur de pénétration de ces longueurs d'onde oblige à mesurer l'intensité lumineuse réfléchie par le cerveau. On utilise donc principalement cette technique sur les petits animaux. L'illumination du cerveau avec plusieurs longueurs d'onde permet de mesurer les changements de concentration des molécules d'oxy et de déoxyhémoglobine.

1.2.2.3 Mesure du débit à l'aide de l'optique

Les premières utilisations du laser pour mesurer le DSC ont utilisé l'effet Doppler. Ainsi, les premières études ont montré une diminution du débit DSC dans l'artère cérébrale moyenne chez l'humain et l'artère cérébrale antérieure avec l'âge (Lipsitz et al., 2000; Sorond et al., 2008). Comme la technique par effet Doppler mesure le débit dans la direction du laser, elle permet de trouver le DSC dans les grosses artères à l'aide des mesures de vitesse et de diamètre des artères (Ajmani et al., 2000). La mesure a toutefois une faible résolution spatiale et n'est pas appropriée pour quantifier le débit dans les capillaires puisque le mouvement est multidirectionnel.

L'imagerie par granularité laser se base sur les travaux théoriques de Fercher and Briers (1981) (Briers, 2001) et permet aussi de mesurer les changements de débit sanguin. Dans le cadre du vieillissement, la technique a permis d'observer une diminution du débit suite à de l'hypoxémie ou à des stimulations des moustaches sur un modèle de souris atteintes d'Alzheimer (Shin et al., 2007). L'imagerie par granularité laser a aussi servi pour mesurer les changements de débits cérébraux suite à des occlusions de l'artère sylvienne (Ayata et al., 2004; Shin et al., 2008; Luckl et al., 2008). La technique a l'avantage de nécessiter très peu d'appareillage, elle permet d'obtenir des cartes 2D des changements de débit et peut se faire

avec le même montage que l'IOI, ce qui facilite grandement son utilisation et évite d'avoir à recalculer des images provenant de différents systèmes d'imagerie.

Depuis une dizaine d'année, on utilise l'IOI en combinaison avec des mesures de débit pour mesurer différentes composantes de la réponse hémodynamique simultanément (Jones et al., 2001; Culver et al., 2003; Durduran et al., 2004b). La technique a entre autres permis de quantifier les changements produits par des lésions de la moelle (Lesage et al., 2009), de mesurer les changements de consommation d'oxygène (Mayhew et al., 2000; Jones et al., 2002; Dunn et al., 2005) et l'effet de l'ischémie cérébrale (Jones et al., 2008; Luckl et al., 2010).

1.2.3 Modélisation

En 1974, Grubb et al. (1974) ont effectué des mesures de débit sanguin cérébral et de volume sanguin cérébral dans le cortex de singe à l'aide de traceurs radioactifs et ont mis en équation la dynamique entre le débit sanguin cérébral et le volume sanguin cérébral (VSC) dans un état semi-statique. Plus récemment, de nouveaux modèles permettant de modéliser le lien entre l'activité neuronale, l'activité métabolique et la réponse hémodynamique ont été développés. En 1997, Buxton and Frank (1997) ont développé un modèle de la dynamique neurovasculaire introduisant un couplage direct entre l'activité métabolique et le DSC. Un an plus tard, Buxton et al. (1998) ont amélioré le modèle du ballon (*balloon model*) en introduisant un modèle biomécanique dans lequel les changements de volume ne sont pas directement reliés aux changements de débit, ce qui permet de modéliser les phénomènes transitoires observés en IRM-f. Le modèle fut ensuite complété par Mandeville et al. (1999) dans le modèle de Windkessel qui explique les changements physiologiques observés en faisant appel à la résistance et à la compliance vasculaire. Les modèles plus récents (Kocsis et al., 2006; Huppert et al., 2007; Zheng et al., 2005) considèrent maintenant séparément les contributions des différents compartiments vasculaires (artériel, vasculaire et capillaire) à l'oxygénation, au débit et au volume cérébral, ce qui permet de reproduire avec encore plus d'exactitude les enregistrements expérimentaux.

1.3 Objectifs

Objectif 1 : Mesurer les changements hémodynamiques avec l'âge sur un modèle réussi de vieillissement chez le rat à l'aide d'IOI.

Problématique : Le vieillissement peut modifier plusieurs propriétés du cerveau ayant un effet sur la réponse hémodynamique. Toutefois, ces changements de réponse hémodynamique ne sont pas encore bien connus lors du vieillissement.

Hypothèse : Le vieillissement produit des changements neurovasculaires chez le rat LOU/C/RQRV et il est possible de mesurer ces effets (diminution de l'amplitude de la réponse, augmentation du temps de réponse, changement de la forme de la réponse hémodynamique et modification différente des courbes d'HbO, HbR et DSC en fonction de l'âge) à travers des changements de réponse hémodynamique à l'aide de l'IOI.

Justification de l'originalité : De nombreuses études ont mesuré les changements hémodynamiques cérébraux chez le rat à l'aide d'IOI. Toutefois, ces études sont habituellement limitées à un seul groupe d'âge ou à un nombre limité d'animaux.

Objectif spécifique #1 : Développer un système d'enregistrement permettant :

- d'enregistrer avec une vitesse d'acquisition suffisante les enregistrements d'imagerie optique intrinsèque et les mesures de granularité laser ;
- de produire une grande variété de stimulations électriques ;
- d'effectuer des mesures simultanées d'activité neuronale dans le cerveau ;
- de mesurer différents paramètres physiologiques.

Objectif spécifique #2 : Développer une bonne expertise dans l'enregistrement par IOI chez le rat. Pour être en mesure de comparer nos différentes populations de rats, il est important d'avoir des enregistrements où les fluctuations physiologiques de la réponse hémodynamique sont les plus faibles possible. De plus, malgré la grande disparité des rats par rapport à la taille et à l'activité métabolique en fonction de l'âge, nous voulons avoir des rats dans les conditions les plus semblables possible.

Objectif spécifique #3 : Développer un logiciel de traitement sous Matlab© permettant d'analyser les enregistrements effectués.

L'analyse et le traitement des différentes réponses hémodynamiques chez le rat LOU/C/RQRV à différents stades du vieillissement nous permettra de quantifier ces changements hémodynamiques.

Publications reliées

1. Dubeau, S., Beaumont, E., Lesage, F., 2009. *Relation between the neuronal and hemodynamic response in the lesioned rat spinal cord following peripheral nerve stimulation*. SPIE BIOS, San Jose, Ca, Janvier.
2. Dubeau, S., Ferland, G., Gaudreau, P., Beaumont, E., Lesage, F., 2011. *Quantification of cerebrovascular changes in the aging LOU/C rat using intrinsic optical imaging*. The 10th International Congress on Alzheimer's & Parkinson's Diseases, Barcelona, Mars.

3. Dubeau, S., Ferland, G., Gaudreau, P., Beaumont, E., Lesage, F., 2011. *Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the Lou/c rat : a model of healthy aging*. NeuroImage 56, 1892-1901.

Objectif 2 : Étudier l'effet du vieillissement sur des marqueurs neurovasculaires obtenus à l'aide d'un modèle biomécanique permettant de reproduire la réponse hémodynamique mesurée chez les rats à partir des techniques d'IOI et de granularité laser.

Problématique : De nombreux modèles biomécaniques peuvent être utilisés pour reproduire les changements de réponse hémodynamique suite au vieillissement. Toutefois, dans ces modèles, les erreurs d'estimations n'ont pas été quantifiées, si bien qu'il n'est pas actuellement possible de savoir si les modèles biomécaniques peuvent extraire de façon précise des paramètres hémodynamiques. De plus, il existe peu d'enregistrements de réponse hémodynamique à différents stades du vieillissement pour pouvoir valider l'utilisation des modèles biomécaniques.

Hypothèse : Les propriétés neurovasculaires diffèrent chez des populations de rats d'âges différents et la modélisation de la réponse hémodynamique des données d'IOI permet d'extraire et d'observer les changements hémodynamiques. Plus spécifiquement, on s'attend à ce que l'âge produise une diminution de la compliance, une diminution du CMRO₂ au repos, une augmentation du temps de transit du sang dans la région d'intérêt et une diminution de l'activité neuronale.

Justification de l'originalité : Les modèles biomécaniques de la réponse hémodynamique ont été utilisés pour reproduire des mesures dans des populations normales. Toutefois, ces modèles pourraient être utilisés pour quantifier des propriétés hémodynamiques et comparer des populations d'âges différents.

Objectif spécifique #1 : Développer une modélisation permettant de comparer de façon quantitative différents modèles dynamiques de la réponse hémodynamique.

Objectif spécifique #2 : Développer un modèle mathématique, basé sur les travaux de Boas-Huppert, permettant de retrouver des mesures au repos et une mesure de consommation d'oxygène.

Objectif spécifique #3 : Suivre les modifications de paramètres neurovasculaires (compliance des vaisseaux, CMRO₂, variation de débit) durant le vieillissement du rat LOU_{/C/RQRV}.

Une fois les modèles mathématiques en place, ceux-ci seront utilisés pour :

- extraire des marqueurs neurovasculaire chez le rat LOU_{/C/RQRV} ;
- déterminer si ces marqueurs peuvent être déterminés avec une bonne précision ;
- déterminer si ces marqueurs sont affectés par le vieillissement.

Publication reliées

1. Dubeau, S., Desjardins, M., Pouliot, P., Beaumont, E., Gaudreau, P., Ferland, G., Lesage, F., 2011. *Biophysical model estimation of neurovascular parameters in a rat model of healthy aging*. NeuroImage 57, 1480-1491.

Objectif 3 : Comparer le couplage neurovasculaire lors de l'activité neuronale stimulée et spontanée.

Problématique : L'étude de la réponse hémodynamique au repos est de plus en plus utilisée dans le but de déterminer les réseaux neuronaux présents dans le cerveau. L'étude de la connectivité de la réponse hémodynamique (délais entre deux régions) permet d'inférer des liens d'activité neuronale entre deux régions du cerveau. Toutefois, cette technique fait l'hypothèse qu'il y a un couplage entre l'activité neuronale au repos et la réponse hémodynamique, ce qui n'a pas été démontré.

Hypothèses : La déconvolution hémodynamique permet de retrouver l'activité neuronale stimulée et l'activité neuronale spontanée. L'activité neuronale spontanée et l'activité neuronale stimulée ayant des origines différentes, les deux types d'activité n'ont pas le même couplage neurovasculaire.

Justification de l'originalité : La possibilité de retrouver l'activité neuronale spontanée à partir de la déconvolution de la réponse hémodynamique n'a pas encore été démontrée. Le code de déconvolution développé par Martin Havlocek bien que performant sur des données théorique n'a pas été validé sur des données expérimentales.

Objectif spécifique #1 : Adapter le code de déconvolution hémodynamique développé par Martin Havlicek (Havlicek et al., 2010, 2011) pour traiter les données d'IOI.

Objectif spécifique #2 : Développer des métriques spécifiques permettant de comparer l'activité neuronale reconstruite à l'aide de la réponse hémodynamique et les mesures de l'activité neuronale par électrophysiologie.

Objectif spécifique #3 : Déterminer les modifications de l'activité neuronale spontanée durant le vieillissement.

Publications reliées

1. Dubeau S., Havlicek M., Beaumont E., Ferland G., Lesage, F., Pouliot P., 2011. *Does neurovascular deconvolution reflect the true neuronal inputs?* Soumis à NeuroImage, 12 Août 2011

CHAPITRE 2

Théorie physiologie

2.1 Introduction

Dans le cerveau, plusieurs mécanismes de contrôle sont présents pour conserver un apport continu en oxygène et en nutriments et pour évacuer les déchets produits par l'activité neuronale. Suite à une stimulation (sensorielle, visuelle, cérébrale), une série de mécanismes impliquant plusieurs systèmes biologiques entreront en jeu pour former la réponse neurovasculaire.

Les changements d'activité neuronale amènent une dilatation des artérioles, ce qui produit une augmentation locale du débit artériel, une augmentation de la concentration de HbO et une augmentation graduelle du volume local (HbT) dans l'environnement micro-vasculaire (à l'image d'un ballon élastique qui se gonfle), ce qui a aussi pour effet d'augmenter la concentration de sang désoxygéné. Simultanément à ces changements de débit, l'activité neuronale produite augmente la concentration de neurotransmetteurs dans l'espace extracellulaire, ainsi que l'activité des astrocytes (impliqués entre autres dans la recapture des neurotransmetteurs libérés) et la consommation d'oxygène ($CMRO_2$) et de glucose ($CMRGlu$). Ces molécules seront extraites du sang en passant à travers la paroi capillaire transformant le sang oxygéné en sang désoxygéné. L'effet combiné de l'augmentation initiale du volume local et l'augmentation de $CMRO_2$ augmente la concentration initiale de HbR (figure 2.1) dans ce qui est appelé l'*initial dip*, mais ce sujet reste controversé puisque cette augmentation n'est pas observée dans toutes les études (Buxton, 2001; Thomsen et al., 2004).

Finalement, l'augmentation graduelle du volume local augmente le flux veineux sortant du ballon. Comme l'augmentation de flux sanguin est plus importante que l'augmentation de $CMRO_2$ et de $CMRGlu$, le HbR est nettoyé par le flux sanguin entrant, ce qui a pour effet de faire diminuer la concentration de HbR.

Il existe une littérature importante décrivant la longue cascade d'évènements à partir de l'activation d'un neurone (section 2.2) et la réponse vasculaire (section 2) jusqu'aux mesures macroscopiques pouvant être effectuées par les différentes techniques d'imagerie. La présente revue est construite afin de survoler les différents aspects impliqués dans cette longue chaîne d'évènements en s'attardant principalement aux propriétés affectées par le vieillissement. compte tenu de l'aspect très sommaire de cette revue, le lecteur est encouragé à poursuivre sa lecture à travers les différents textes présentés en référence.

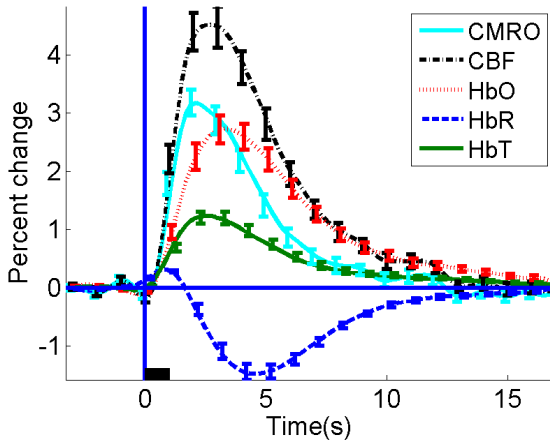


Figure 2.1: Exemple de réponse hémodynamique mesurée dans le cortex sensorimoteur suite à une stimulation de la patte

2.2 Réponse neuronale

L'influx nerveux est produit à travers les potentiels d'actions (PA) des neurones. Dans ces derniers, un changement des flux ioniques dans la membrane cellulaire produit le PA et entraîne le relâchement de neurotransmetteurs dans l'espace synaptique (figure 2.2) pour pouvoir stimuler un autre neurone. Pour rétablir les concentrations ioniques et de neurotransmetteurs, le cerveau utilise de l'énergie obtenue principalement par l'oxydation du glucose. Ce mécanisme consomme du glucose et de l'oxygène et produit du CO_2 (ayant un effet vasodilatateur). Les nombreux mécanismes en jeu dans la consommation cérébrale d'oxygène ne seront pas couverts ici, mais le lecteur est invité à consulter la revue de Magistretti and Pellerin (1999) sur le sujet.

2.2.1 Facteurs impliqués dans le couplage neurovasculaire

2.2.1.1 Ions

Parmi tous les ions libérés lors d'un potentiel d'action, les ions H^+ , K^+ et Ca^{2+} sont reconnus pour avoir un effet vasodilatateur. L'augmentation du K^+ extracellulaire jusqu'à 8–10 mM produit une dilatation sur les modèles *in vitro* et *in vivo* (Kuschinsky et al., 1972; Nguyen et al., 2000; Girouard et al., 2010). Plus récemment, Girouard et al. (2010) ont montré que des concentrations différentes de Ca^{2+} agissaient sur les canaux K^+ sensibles au calcium et qu'une augmentation de la concentration de Ca^{2+} transformait un effet vasodilatateur en effet vasoconstricteur. De plus, l'augmentation du Ca^{2+} produit une augmentation du NO, un vasodilatateur important (Park et al., 2007).

2.2.1.2 Voie métabolique

L'augmentation de l'activité neuronale augmente l'activité métabolique produisant une augmentation de la consommation de glucose de façon non-oxydative entraînant la production de lactate et l'augmentation de la concentration d'ions H^+ et la vasodilatation (Pellerin et al., 1998). L'augmentation de l'activité métabolique entraîne une augmentation de la dégradation de l'ATP qui produit de l'adénosine, un vasodilatateur connu (Li and Iadecola, 1994).

2.2.1.3 Astrocytes

Les études récentes proposent que les astrocytes seraient un intermédiaire important dans le couplage neurovasculaire (Haydon and Carmignoto, 2006; Iadecola and Nedergaard, 2007). Les astrocytes, qui sont environ 10 fois plus nombreux que les neurones, sont en contact direct avec les neurones et les terminaisons des astrocytes (*end-feet*) recouvrent jusqu'à 99% de l'espace périvasculaire (voir figure 2.2). Les astrocytes seraient donc un intermédiaire pouvant jouer un très grand rôle dans le couplage neurovasculaire puisqu'ils sont impliqués dans la recapture du glutamate. Bien que ce dernier ne soit pas un vasodilatateur direct, la recapture du glutamate dans les astrocytes modifie la concentration de Ca^{2+} dont les effets vasodilatateur ont été mentionnés précédemment. Voir Nair (2005); Girouard and Iadecola (2006); Gordon et al. (2008) pour une revue des différents effets observés.

2.2.1.4 Effets de l'âge

De nombreuses autres substances n'ont pas nécessairement un effet direct sur les mécanismes de vasodilatation des artérioles mais ont des effets indirects sur le débit sanguin. Il est surprenant d'observer que la majorité de ces substances dont l'effet est modulé par l'âge ont comme finalité une réduction du débit sanguin. Ainsi, l'âge réduit la vasodilatation qui est produite par l'injection d'adénosine (Jiang et al., 1992), d'acétylcholine (Mayhan et al., 1990), de bradikinine (Mayhan et al., 1990) et de nicotine (Uchida et al., 1997). Aussi, l'âge augmente la vasoconstriction des vaisseaux produite par l'injection de sérotonine (Mayhan et al., 1990; Hajdu et al., 1993). De plus une étude récente a observé une concentration plus importante de Ca^{2+} dans les astrocytes de souris atteintes d'Alzheimer (Kuchibhotla et al., 2009), ce qui pourrait induire des changements de vasoconstriction et donc de la réponse hémodynamique avec l'âge.

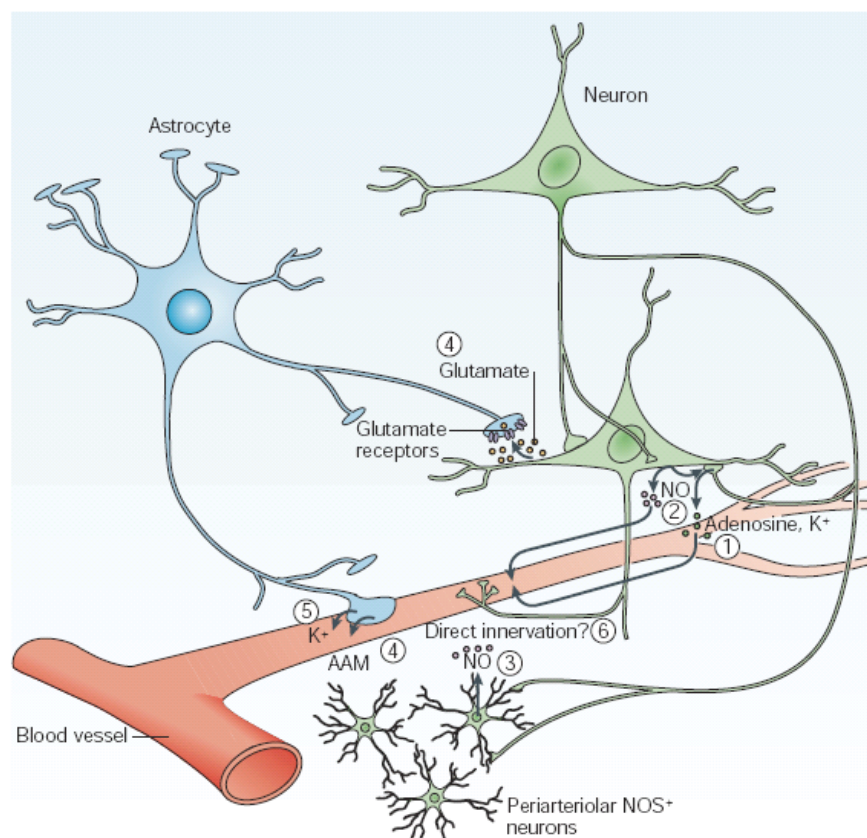


Figure 2.2: Relation entre les neurones, les astrocytes et la vasculature. Lors d'activité neuronale, les neurotransmetteurs (le principal étant le glutamate) sont relâchés dans l'espace synaptique. Les astrocytes jouent un rôle central dans le contrôle des concentrations ioniques et des neurotransmetteurs et servent de lien entre l'augmentation de l'activité neuronale et les changements des propriétés vasculaires. Figure tirée de D'Esposito et al. (2003).

2.3 Structure des vaisseaux sanguins cérébraux

Le sang irrigue le cerveau à travers des artères piales se trouvant à la surface du cerveau. Ces artères sont entourées d'une couche de plusieurs cellules de muscles lisses. Ces muscles sont innervés par les nerfs perivasculaires provenant du système nerveux autonome et des ganglions sensitifs (Pour plus de détails, se référer à Iadecola (2004)). Les artères piales se divisent graduellement en artérioles à mesure qu'elles entrent à l'intérieur du cerveau. À cause de leur petit diamètre, les artérioles produiront la majeure partie de la résistance artérielle et auront donc une grande influence sur le contrôle du débit sanguin. Les artérioles sont couvertes d'une seule couche de muscle lisse et sont entourées des prolongements astrocytaires. Les artérioles continuent de se diviser et leur paroi devient de plus en plus fine pour finalement ne plus contenir de muscle lisse et se transforment en capillaires (voir figure 2.3).

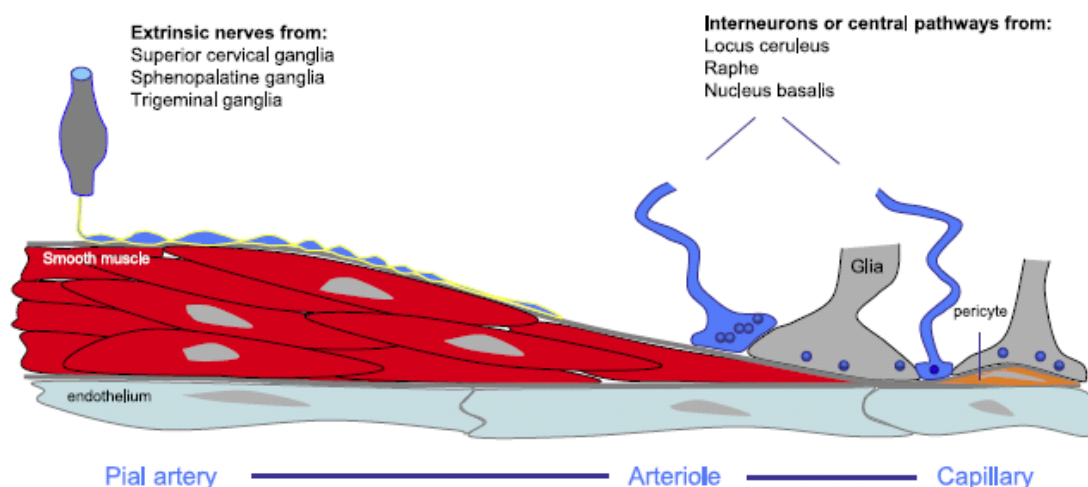


Figure 2.3: Relation entre les cellules, la vasculature, les muscles lisses, les neurones et les astrocytes. Figure tirée de Girouard and Iadecola (2006).

2.3.1 Propagation rétrograde de la vasorégulation

Les mécanismes de vasodilatation mentionnés précédemment agissent cependant à proximité de l'activité neuronale. Toutefois, une grande partie de la vasorégulation s'effectue en amont, dans des artères piales, qui se trouvent éloignées du lieu d'activation. La propagation du message de vasorégulation s'effectuerait en partie à travers les *gaps junctions* des cellules endothéliales et des muscles lisses (Kawamura et al., 2003; Sokoya et al., 2006).

Un autre mécanisme de vasorégulation à distance proviendrait directement des neurones. Ainsi, des terminaisons nerveuses des interneurons et de noyaux éloignés sont en contact direct avec l'endothélium et les muscles lisses le long des vaisseaux et permettraient la va-

sorégulation. Cauli et al. (2004) a montré que l'activation d'interneurones avec un contact direct avec les vaisseaux sanguins produit une vasodilatation. Toutefois, la contribution de ce mécanisme de contrôle par rapport aux autres mécanismes de contrôle n'est pas encore bien quantifié (Girouard et al., 2006).

Pour une revue détaillée des mécanismes neuronaux impliqués dans la vasorégulation, le lecteur est invité à lire la revue de Drake and Iadecola (2007).

2.3.2 Effet du vieillissement

En plus des effets physiques et physiologiques mentionnés dans l'introduction, deux effets importants du vieillissement peuvent expliquer les changements de la réponse hémodynamique, l'hypertension et le stress oxydatif.

2.3.2.1 Hypertension

L'hypertension, fortement présente lors du vieillissement, a des effets majeurs sur le DSC. Elle favorise l'artériosclérose des artères et artérioles cérébrales (Dickinson, 2001; Faraci et al., 1990), ce qui favorise l'occlusion des artères et réduit le débit cérébral. De plus, l'hypertension diminue l'amplitude des changements de CBF sous stimulation sans changer le CBF au repos sur des souris de laboratoires traitées à l'angiotensine II (Kazama et al., 2003) et chez l'humain (Jennings et al., 2005).

2.3.2.2 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est causé par les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). Ceux-ci sont des substances très réactives et des sous-produits du métabolisme de l'oxygène dans les mitochondries. En plus d'être produits en plus grande quantité en fonction de l'âge (Sen et al., 2007) les DRO sont éliminés moins rapidement en fonction de l'âge puisque l'âge diminue la quantité d'antioxydants présents (Lee and Yu, 1990). L'augmentation des DRO diminuerait la présence de NO (Matz et al., 2000; Russo et al., 2002), augmenterait l'athérosclérose (Yildiz, 2007) et favoriserait la dysfonction endothéliale (Matz et al., 2000; Russo et al., 2002).

2.4 Électrophysiologie

Lorsqu'un PA se produit, les courants du potentiel d'action produisent des courants dans le milieu extracellulaire. En utilisant une électrode avec une très petite surface exposée ($100\mu\text{m}$, impédance de 40-120 k Ω), il est possible de mesurer les potentiels d'action extracellulaires des cellules dans un rayon de 50 à $350\mu\text{m}$ de l'électrode (Gray et al., 1995). Ces potentiels

seront de très courte durée (figure 2.4). Malheureusement, les informations obtenues à l'aide de ces électrodes ne donnent pas d'information sur les événements qui se déroulent et qui ne produisent pas de potentiels d'action. L'enregistrement des PA de plusieurs neurones est communément appelé dans la langue anglaise *multiple-unit spiking activity* (MUA).

En utilisant une électrode ayant une plus grande surface exposée, il est possible d'enregistrer les potentiels locaux (*local field potentials*, LFP). Ceux-ci représentent des événements se produisant à plus basse fréquence et intègrent l'activité synchrone de plusieurs neurones dans un rayon de 0,5 à 3 mm de l'électrode (Mitzdorf, 1985; Juergens et al., 1999). On sait maintenant que ces enregistrements proviennent de l'activité dendritique et synaptique (incluant l'activité inhibitrice et excitatrice des interneurons) d'une région donnée et permettent donc d'enregistrer l'activité électrique qui peut être produite même si un PA n'est pas enregistré (Logothetis, 2003; Mitzdorf, 1985).

Les LFP intégrant les PA sur une grande région d'intérêt, il n'est pas surprenant d'observer que les LFP corrélaient assez bien avec les MUA. Toutefois, comme les LFP intègrent aussi de l'activité dendritique ne menant pas à des PA, il est possible d'avoir une faible corrélation entre les MUA et les LFP (Mathiesen et al., 1998). Il semble que les LFP soient de meilleurs prédicteurs de la réponse hémodynamique que les MUA (Logothetis, 2003; Mathiesen et al., 1998).

Pour plus de détails sur les différents enregistrements électrophysiologiques, le lecteur est dirigé vers deux revues traitant du sujet (Logothetis, 2003; Iadecola, 2004).

2.5 Modélisation du couplage neurovasculaire

Jusqu'à maintenant, l'aspect neuronal du couplage neurovasculaire a été discuté. La partie vasculaire de ce couplage est fort complexe et fait intervenir beaucoup de phénomènes non linéaires. Toutefois, de nombreux modèles plus ou moins simplistes permettent de modéliser le comportement vasculaire. Le modèle de Buxton (Buxton and Frank, 1997; Buxton et al., 2004) permet une approche simplifiée des phénomènes en jeu, permet de relier le flux sanguin, le volume sanguin, l'oxygénation et les changements de concentrations d'hémoglobine et permet de bien reproduire les résultats expérimentaux.

Le modèle de Buxton représente différents éléments de la réponse hémodynamique. Une stimulation $s(t)$ produit une activation neuronale $n(t)$. Cette activation neuronale produit un changement de flux sanguin $f(t)$ entrant dans le ballon et de consommation d'oxygène (CMRO₂) $m(t)$. Ces deux dernières valeurs modifient les concentrations de sang dé-oxygéné $q(t)$ et le volume du ballon vasculaire $v(t)$. Dans le modèle, quelques hypothèses sont effectuées.

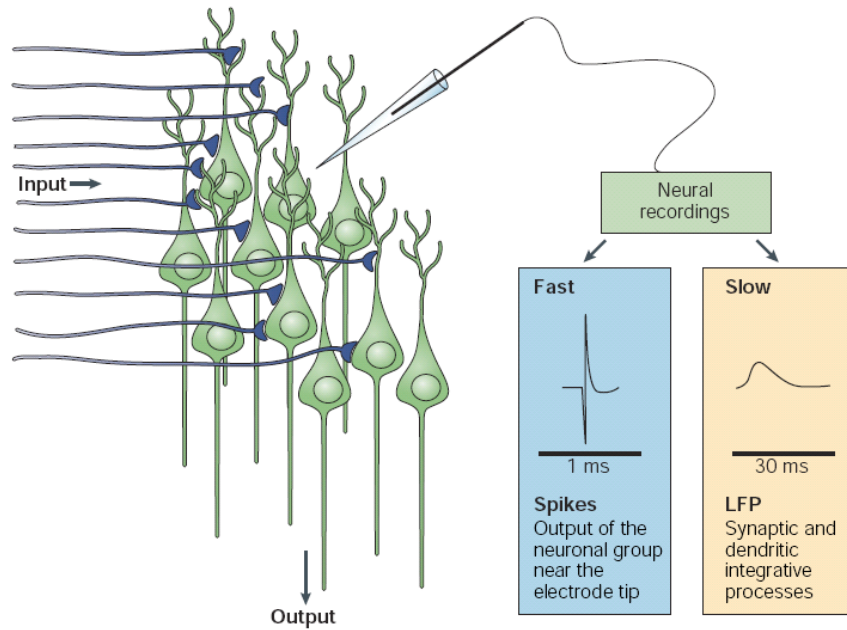


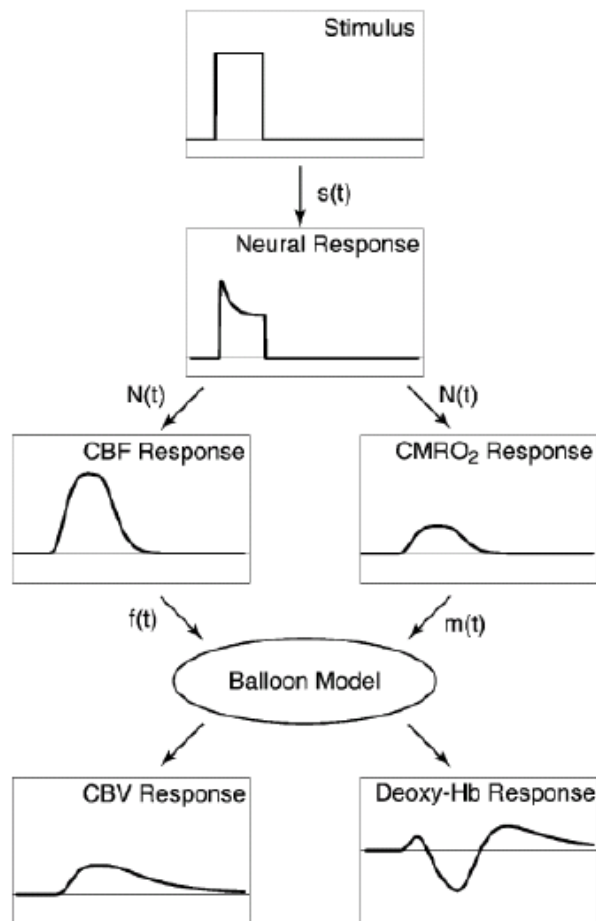
Figure 2.4: Enregistrement de l'activité neuronale à l'aide d'une microélectrode. La composante haute fréquence représente un potentiel d'action (*spikes*). La composante basse fréquence représente le potentiel local (*LFP*). Figure tirée de Iadecola (2004).

1. Il n'y a pas de distinction entre les compartiments artériels, veineux et les capillaires.
2. L'augmentation de volume se fait dans le volume veineux, il n'y a donc pas de changement de volume des capillaires et la surface d'échange gazeux entre les capillaires et l'espace périvasculaire reste le même.
3. En régime constant, le flux sanguin DSC et le volume sanguin cérébral VSC suivent la relation de Grubb $f = v^\alpha \equiv DSC = VSC^\alpha$, où α est l'exposant de Grubb et est habituellement compris entre $[0 : 25 ; 0 : 4]$ (Grubb et al., 1974).

2.5.1 Fraction d'oxygène extrait

Les phénomènes de transport d'oxygène se produisant entre le sang et la parenchyme dépendent entre autres de la surface couverte par les capillaires, la pression partielle d'oxygène dans le tissu et dans les capillaires et la perméabilité des capillaires à l'oxygène. Buxton et al. (1998) ont proposé un modèle mathématique permettant de modéliser la quantité d'oxygène qui est consommé par le tissu. La fraction d'oxygène extrait (OEF, *oxygen extraction fraction*) est définie comme le pourcentage de l'oxygène passant dans le ballon qui est extrait par le tissu, ceci en faisant l'hypothèse que tout l'oxygène qui est extrait à partir des capillaires est

A



B)

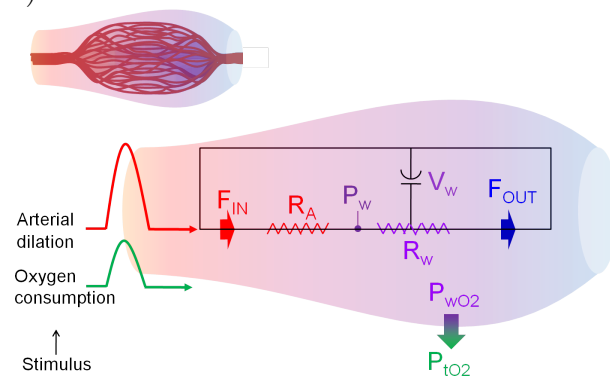


Figure 2.5: Modèle de Buxton du couplage neurovasculaire. A) Diagramme de la réponse hémodynamique (extrait partiel d'une figure tirée des travaux de Buxton et al. (2004)). B) Diagramme imagé de la réponse hémodynamique.

métabolisé par le tissu. L'OEF est modélisé ainsi :

$$OEF(DSC) = 1 - (1 - EOF_0)^{DSC_0/DSC}$$

où DSC_0 est le débit sanguin cérébral au repos et EOF_0 est la fraction d'oxygène extrait au repos. Le OEF dépend donc du débit sanguin cérébral, et si la consommation d'oxygène reste la même, une augmentation du débit sanguin aura pour effet de diminuer l'OEF.

2.5.2 Consommation cérébrale d'oxygène

Les techniques d'imagerie permettent de retrouver le volume d'hémoglobine présent dans un compartiment sanguin. Comme on connaît aussi le débit sanguin dans le compartiment, il est possible de retrouver la consommation locale d'oxygène, soit :

$$(1 + \Delta CMRO_2) = (1 + \Delta DSC) \frac{1 + \Delta HbR_{ven}}{1 + \Delta VSC_{ven}} \quad (2.1)$$

où, (VSC) est le volume sanguin cérébral, l'indice ($_{ven}$) représente la concentration dans les compartiments veineux et (Δ) représente un changement relatif des différentes quantités.

2.5.3 Linéarité du couplage neurovasculaire

L'imagerie fonctionnelle se base sur un fort couplage entre l'activité neuronale et les changements hémodynamiques. Toutefois, de nombreuses études viennent infirmer cette hypothèse. En imagerie IRM-f, certaines études montrent des non linéarités pour des stimulations de durées différentes (Liu and Gao, 2000; Miller et al., 2001; Ogawa et al., 2000; Friston et al., 1998; Glover, 1999; Shmuel et al., 2002) et pour des réponses d'amplitudes différentes (Ogawa et al., 2000; Glover, 1999).

En IOI, on observe aussi des non-linéarités pour des durées de stimulations différentes. Plusieurs études ont montré que pour des stimulations de plus de 5 secondes, la réponse hémodynamique avait tendance à diminuer après un maximum d'amplitude se situant à environ 4 s (Norup Nielsen and Lauritzen, 2001; Zheng et al., 2002; Martindale et al., 2005). On observe des non-linéarités entre l'amplitude de la stimulation et l'amplitude de la réponse hémodynamique, mais la réponse demeure presque linéaire pour des stimulations électriques entre 0.5 et 1.5 mA (des intensités près du seuil musculaire) (Hewson-Stoate et al., 2005; Franceschini et al., 2008). Finalement, on observe des non-linéarités entre la fréquence de stimulation et l'amplitude de la réponse hémodynamique. Les stimulations de fréquences élevées produisant une inhibition de la réponse hémodynamique, la fréquence de stimulation produisant la réponse maximale se trouve entre 2 et 5 Hz (Norup Nielsen and Lauritzen,

2001; Hewson-Stoate et al., 2005; Franceschini et al., 2008).

Même s’il existe une grande non-linéarité entre les stimulations, en utilisant des électrodes dans le cerveau il est possible d’enregistrer directement l’activité neuronale mesurée. Ce faisant, on observe une plus grande linéarité entre l’activité neuronale et la réponse hémodynamique qu’entre l’activité neuronale et les stimulations (Sheth et al., 2004b; Hewson-Stoate et al., 2005; Franceschini et al., 2008). Plus précisément, il existerait une loi de puissance $H = kA^c$ entre l’activité neuronale mesurée A et l’amplitude de la réponse hémodynamique H , où c se situe entre 1.38 (Hewson-Stoate et al., 2005) et 2 (Franceschini et al., 2008). Cette loi de puissance indique que de faibles réponses neuronales provoquent peu ou pas de réponse hémodynamique.

Par contre, il demeure des non-linéarités entre les mesures de l’activité neuronale et la réponse hémodynamique. Huppert et al. (2009) ont modélisé le couplage neurovasculaire pour différents degrés d’hypercapnie et montrent que le degré d’hypercapnie n’affecte ni l’amplitude de la réponse neuronale ni le $CMRO_2$ mais affecte l’amplitude de la réponse hémodynamique.

Ainsi, le couplage neurovasculaire est un processus complexe qui est influencé par les propriétés des cellules nerveuses de même que par les propriétés des vaisseaux sanguins à proximité. Pour avoir une bonne idée de ce couplage, il est important d’avoir un système d’imagerie qui permet d’enregistrer plusieurs composantes de la réponse hémodynamique. Le montage utilisé dans ces travaux combine les mesures de concentrations d’hémoglobine (mesures d’imagerie optique intrinsèque) aux mesures de débit sanguin (mesure de granularité laser) et permet donc d’enregistrer simultanément une série complète de paramètres hémodynamiques (ΔHbO , ΔHbR , ΔDSC , ΔVSC et $\Delta CMRO_2$).

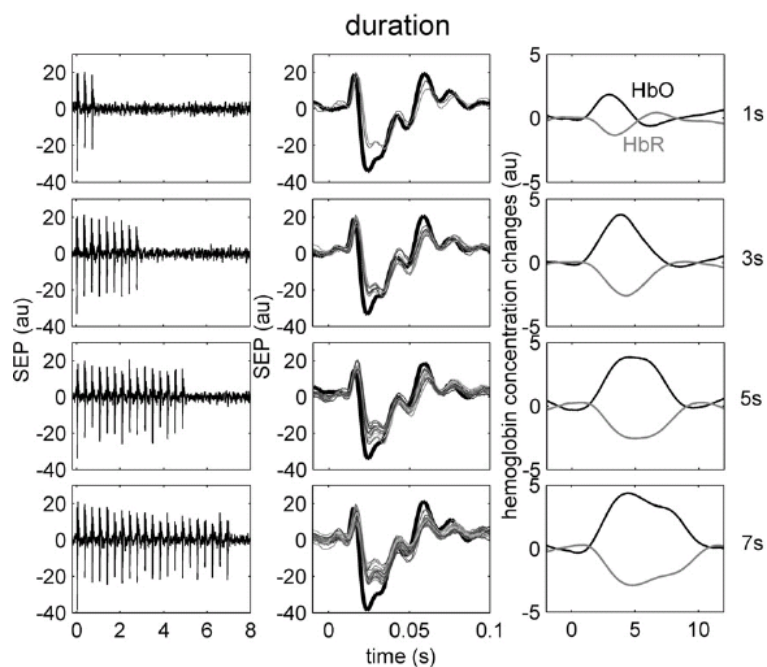


Figure 2.6: Non-linéarité dans le couplage neurovasculaire pour différentes durées de stimulations électriques. Gauche : réponse neuronale (SEP : potentiel évoqué). Centre : Réponses neuronales alignées par rapport à la stimulation électrique. Droite : réponse hémodynamique. Pour de longues stimulations, la réponse culmine à environ 4 s pour redescendre à un plateau. Figure tirée de Franceschini et al. (2008).

CHAPITRE 3

Théorie imagerie

3.1 Introduction

Lorsque l'on veut enregistrer *in situ* l'activité neuronale suite à une stimulation, les mesures d'électrophysiologies effectuées à l'aide d'électrodes insérées dans le cerveau permettent d'obtenir une mesure très locale. Par contre, pour effectuer des mesures sur une plus grande région, les techniques d'imagerie fonctionnelle sont mieux adaptées. Parmi les techniques utilisées chez l'humain, l'imagerie PET suit les émissions de traceurs radioactifs injectés dans le cerveau ce qui permet de mesurer entre autres la consommation d'oxygène et de glucose. L'IRM-f, permet de mesurer l'activité neuronale en mesurant le signal BOLD qui provient de l'aimantation de l'hémoglobine déoxygénée présente dans le sang.

Ces deux techniques sont très bien adaptées pour les mesures effectuées chez l'humain à cause de leur aspect non-invasif. Par contre, ces techniques ont de faibles résolutions spatiale et temporelle. Lors de l'imagerie de petits animaux, l'aspect non-invasif est beaucoup moins important. Dans ce cas, l'imagerie optique est bien appropriée. Les différentes techniques d'imagerie optique se basent sur les propriétés d'interaction de la lumière avec le milieu. L'imagerie optique diffuse (IOD) et l'imagerie optique intrinsèque (IOI) se basent sur la diffusion et l'absorption de la lumière par le milieu. Lorsqu'une stimulation est effectuée, il y a un changement local des concentrations des molécules d'oxyhémoglobine et de déoxyhémoglobine ce qui modifie l'intensité de la lumière qui sera captée par le détecteur.

L'IOD est habituellement effectuée avec une lumière infrarouge. Cette lumière est faiblement absorbée par le tissu (figure 3.1), ce qui permet d'effectuer des mesures de transmission de la lumière dans le tissu. Elle est utilisée en neuroscience depuis plus de 15 ans chez l'humain (Villringer et al., 1993; Hoshi and Tamura, 1993; Obrig and Villringer, 2003; Gibson et al., 2005) en partie à cause de son faible coût par rapport à l'IRM mais elle possède par contre une faible résolution spatiale.

L'IOI est une technique qui existe aussi depuis plus d'une quinzaine d'année (Dunn et al., 2003; Berwick et al., 2005; Frostig et al., 1990; Vanzetta et al., 2005). On utilise de la lumière visible qui a une plus faible profondeur de pénétration et qui est plus fortement absorbée par le tissu, si bien qu'on utilise un montage en réflexion (figure 3.2). Dans ce dernier, la lumière de différentes longueurs d'onde pénètre faiblement dans le tissu et une partie de la lumière retourne à la surface du tissu pour être captée par une caméra.

Dans le cadre de mesures IOI, une technique de plus en plus utilisée pour mesurer les changements de débit est imagerie par granularité laser. Cette technique se base sur le principe d'interférence produite par la réflexion de la lumière cohérente issue d'une source laser non focalisée. Cette technique a l'avantage d'utiliser le même montage d'enregistrement que le système d'IOI, ce qui facilite grandement la prise des mesures et permet d'obtenir des cartes 2D de débit sanguin simultanément aux mesures d'absorption.

3.2 Mesure des concentrations d'hémoglobine par IOI

La transmission de la lumière dans un milieu contenant des particules absorbantes peut être décrite par la loi de Beer-Lambert :

$$I(\lambda) = I_0(\lambda) \cdot e^{-\int \varepsilon(\lambda, x) C(x) dx}$$

où $I(\lambda)$ est l'intensité de la lumière transmise de longueur d'onde λ , I_0 est l'intensité de la lumière incidente et $\varepsilon(\lambda, x)$ est le coefficient molaire d'extinction de la lumière (voir figure 3.1), $C(x)$ est la distribution de concentration des espèces absorbantes (en mol/L) et finalement l'intégrale est effectuée sur tout le trajet parcouru par la lumière.

Cette équation peut être modifiée pour représenter la propagation de la lumière dans le cerveau, un milieu fortement diffusant. En faisant l'hypothèse que le milieu imagé est uniforme, on obtient la loi de Beer-Lambert (voir Kohl et al. (2000)) :

$$OD = \log \frac{R_m}{I_0} = \sum_i \varepsilon_i(\lambda) C_i D_a(\lambda) + G \quad (3.1)$$

où R_m et I_0 sont les intensités de la lumière réfléchie mesurée et de la lumière incidente, $\varepsilon_i(\lambda)$ et C_i sont respectivement le coefficient d'extinction molaire et le changement de concentration molaire du $i^{\text{ème}}$ chromophore, $D_a(\lambda)$ est un facteur faisant intervenir la distance optique parcourue par la lumière dans le tissu (dépendant les propriétés d'absorption et de diffusion de la lumière à cette longueur d'onde) (Dunn et al., 2005; Kohl et al., 2000), G est un facteur géométrique et OD est la densité optique (*optical density*).

En imagerie optique intrinsèque, suivant une activation neuronale, l' OD varie en fonction des changements de concentration des différents chromophores rencontrés par la lumière (Dunn et al., 2003; Mayhew et al., 1999). Comme les changements de concentration sont mesurés par rapport à un état initial et que le facteur géométrique ne dépend pas du temps, il est possible de relier les changements de densité optique aux changements de concentrations :

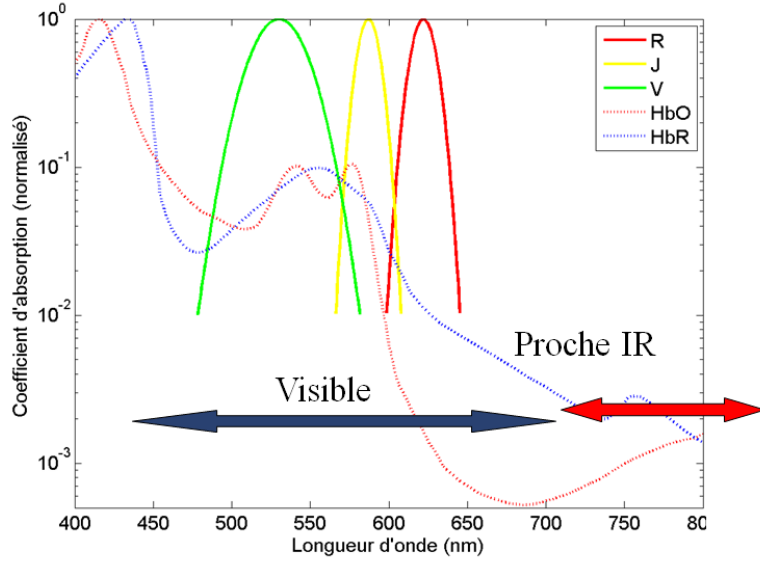


Figure 3.1: Spectre d'absorption des molécules d'oxyhémoglobine et de déoxyhémoglobine et spectre d'émission des diodes électroluminescentes utilisées dans le montage d'IOI.

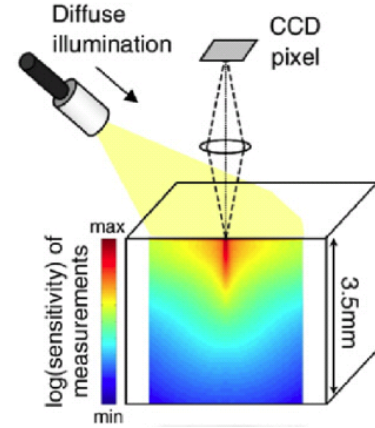


Figure 3.2: Profil de sensibilité obtenu en imagerie optique intrinsèque. Figure tirée de Hillman (2007).

$$\Delta OD = \log \frac{R}{R_0} = \sum_i \varepsilon_i(\lambda) \Delta C_i D_a(\lambda) \quad (3.2)$$

où R et R_0 sont les intensités de lumière réfléchie pendant l'activation et au repos.

Les chromophores ayant des propriétés d'absorption connues (figure 3.1), en illuminant avec différentes longueurs d'onde, il est possible de retrouver les changements de concentration de chacun des chromophores présents. Dans le cas du cerveau, il est ainsi possible de retrouver les changements de concentration des deux principaux chromophores soit $[HbR]$ et $[HbO]$ et par le fait même de retrouver la concentration totale de sang $[HbT]$.

Dans la mesure des concentrations de d'hémoglobine, on fait l'hypothèse que l'absorption est uniforme tout au long de la zone imagée. Comme la lumière rouge a une plus grande profondeur de pénétration que la lumière bleue, elle aura donc tendance à mesurer les changements de concentration plus en profondeur, ce qui n'est pas pris en compte dans l'équation 3.2.

3.3 Granularité laser

Dans l'imagerie par granularité laser (*laser speckle*), la lumière cohérente produite par une source laser est envoyée sur un tissu biologique. La lumière pénètre dans le tissu et, à

cause de la diffusion dans le tissu, une partie de la lumière retourne à la surface du tissu et peut être captée par une caméra. Comme une lumière cohérente est utilisée, celle-ci produit un champ d'interférences qui génère une image granulaire (tavelures, ou *speckle*) sur une caméra. Lorsque le sang circule dans le tissu biologique, le champ d'interférence est modifié, ce qui fait fluctuer les tavelures dans le temps. Ces changements peuvent être quantifiés par le contraste C qui est défini comme le ratio de l'écart-type σ sur l'intensité moyenne mesurée $\langle I \rangle$ par un pixel de la caméra. Dans une région imagée, la vitesse v moyenne des particules est reliée au contraste des tavelures par l'équation suivante :

$$C = \frac{\sigma}{\langle I \rangle} = \left(\frac{\tau_c}{2T} (1 - e^{-\frac{2T}{\tau_c}}) \right)^2 \quad (3.3)$$

où τ_c est le temps de corrélation d'une tavelure et T est le temps d'exposition de la caméra (Fercher and Briers, 1981; Briers, 2001; Dunn et al., 2001; Forrester et al., 2004; Durduran et al., 2004b). Lorsque le temps d'exposition de la caméra est beaucoup plus long que le temps de corrélation d'une tavelure, on se retrouve dans le régime asymptotique (Dunn et al., 2005; Duncan and Kirkpatrick, 2008) et l'équation 3.4 peut se simplifier et donner une mesure du changement de débit sanguin cérébral (DSC) :

$$-2\Delta C/C_0 \approx \Delta\nu/\nu_0 = \Delta\text{DSC}/\text{DSC}_0 \quad (3.4)$$

Nous avons montré comment l'imagerie optique intrinsèque permet d'obtenir des images de HbO, HbR et le DSC. Ces trois mesures hémodynamiques peuvent ensuite être utilisées afin de caractériser la réponse hémodynamique. Malgré tout, les expériences nécessitent beaucoup de précautions et celles-ci seront résumées dans le prochain chapitre.

CHAPITRE 4

Méthodologie

4.1 Introduction

Ce chapitre consiste en une sorte de « manuel technique » décrivant les principales étapes permettant d'effectuer des enregistrements d'imagerie optique intrinsèque. La description des étapes n'est pas entièrement détaillée pour ne pas alourdir le texte. Toutefois, le texte se veut suffisamment complet pour pouvoir bien décrire les problèmes rencontrés durant les expériences et pour guider les futurs utilisateurs afin d'éviter de reproduire des erreurs entraînant l'échec des expériences.

4.2 Préparation expérimentale

4.2.1 Préparation des animaux

Les rats sont initialement anesthésiés à l'isoflurane (3%) et la température rectale est contrôlée et maintenue à 37°C à l'aide d'un tapis chauffant (Harvard). Une canule connectée à une sonde de pression ainsi qu'à une pompe injectant 0.7 ml/h de saline en continu est insérée dans l'artère fémorale. L'injection continue de saline permet d'éviter que le sang ne coagule dans la canule et arrête la lecture de la pression. Une canule est insérée dans une des veines carotides et le rat est anesthésié à l'aide d' α -chloralose (bolus initial de 50mg/kg en environ 7 min suivi d'injection continue de 40mg/kg/h) et l'isoflurane est réduit à (2.5%).

Une trachéotomie est effectuée et le rat est par la suite ventilé (Kent Scientific, CT) en continuant l'anesthésie à l'isoflurane (2.5%) pour diminuer au maximum le stress causé par l'opération. Le rythme respiratoire est maintenu à 50 respirations/min en utilisant un débit de 1L/min, un cycle respiratoire de 20% et une pression respiratoire d'environ 10 cm d'H₂O. La pression respiratoire est ajustée de façon à ce que le rat soit légèrement en hyperoxie. Le rat devrait donc respirer par lui même à toutes les 20 respirations environ ou bien lorsque le respirateur est arrêté plus de 5 s.

Le CO₂ expiré (Capstar 100) et le rythme cardiaque sont enregistrés. Le rat est ensuite positionné sur un montage stéréotaxique, une section du crâne est exposée (1.5 cm²) et une région du crâne de chaque côté du cerveau (latéral : bregma +1 à +6 mm, longitudinal : bregma -4 à +4mm) est amincie à 0.2 mm à l'aide d'une mèche rotative. Les saignements sont arrêtés au cautère électrique et un bain d'huile minérale est ensuite formé à la surface du crâne

pour éviter d’assécher le crâne et faciliter la mise au point. Le montage d’IOI est positionné pour imager la région d’intérêt. Deux électrodes sous cutanées (Grass, *straight subdermal needle electrode*) sont ensuite insérées sous la patte et le seuil de mouvement est déterminé à l’aide d’un pulse électrique (0.3 ms, 1 Hz). Le seuil musculaire se situe habituellement entre 0.8 et 1.3 mA. Si ce n’est pas le cas, les électrodes de stimulation sont repositionnées. Finalement, l’administration d’isoflurane est arrêtée.

4.2.1.1 Ajustement de la respiration

L’utilisation d’un respirateur permet de régler le rythme respiratoire de façon très régulière. Le rythme respiratoire stable réduit les fluctuations de la saturation d’oxygène et le bruit physiologique des mesures d’IOI.

La saturation d’oxygène est ajustée pour avoir une légère hyperoxie. En hypoxémie, le rat effectue de grandes respirations par lui même ce qui peut augmenter le bruit du signal hémodynamique cérébral. Par contre, il est important de ne pas avoir une trop grosse hyperoxémie. Selon notre expérience et les résultats obtenus par le groupe de David Boas, une respiration trop élevée lors de la chirurgie et des enregistrements favorise la présence d’oscillations (ondes de Mayer, figure 4.1).

Note Si le rat est en hypoxémie ou si le CO₂ expiré est trop élevé, il est préférable d’augmenter la pression respiratoire et non le rythme respiratoire. Pour des raisons indéterminées, un rythme respiratoire élevé semble favoriser les oscillations. Le groupe de David Boas maintient le rythme respiratoire à 40 cycles/min, toutefois, ce chiffre est beaucoup plus faible que les valeurs de base du rat qui se situent à plus de 70 respirations/min.

4.2.2 Protocole d’illumination

Un schéma du montage est présenté à la figure 4.3. Les images sont acquises à l’aide d’une caméra CCD 12 bits (CS3960DCL, Toshiba Teli, 30 images/s) ayant une résolution de 1392·1040 pixel et une dimension de pixels de 6.45·6.45 μm . Une interface Labview (National instrument) est utilisée pour contrôler la caméra, enregistrer les images, changer l’illumination et synchroniser l’acquisition et les stimulations électriques. Une lentille macro (Nikkor f=50 mm) est placée à 15 cm du crâne pour obtenir une profondeur de champ suffisamment petite (300 μm) et un agrandissement adéquat (0.5X). La mise au point est ensuite effectuée sur les petites veines et artères à la surface du crâne. Les enregistrements sont effectués en alternant la lumière provenant de 3 diodes haute intensité (Optek technologie, 525, 590 637 nm, largeur à mi-hauteur respective de 33, 10 et 13 nm, voir spectre figure 3.2) et d’une diode laser infrarouge (780 nm, granularité laser). En tout temps, l’ouverture de la caméra est fixée

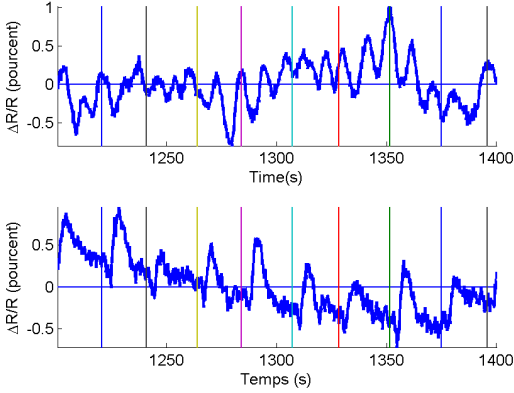


Figure 4.1: Exemple de bruit dans les signaux de réflectance $\Delta R/R_0$ mesuré pour une illumination rouge (637 nm). Haut : signal très bruité et possédant de fortes oscillations à environ 0.1 Hz. Bas : signal très peu bruité où le moyennage est à peine nécessaire pour avoir un bon RSB.

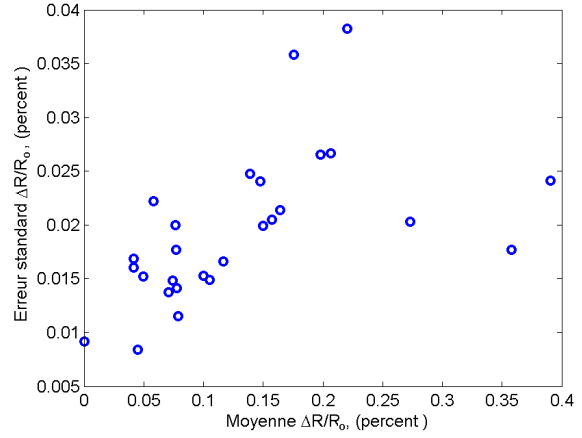


Figure 4.2: Bruit mesuré pour le signal de réflectance $\Delta R/R_0$ pour une illumination rouge (637 nm). Les données proviennent de tous les rats LOU utilisés dans les chapitres 5 et 6. Le bruit est donné par l'erreur standard σ/\sqrt{n} où n représente le nombre de stimulations effectuées, soit habituellement 40 stimulations par rat.

à 5.6, pour que la taille du grain soit de même dimension que la taille d'un pixel (Dunn et al., 2001; Briers, 2001; Parthasarathy et al., 2008). L'acquisition est effectuée à une fréquence de 5 Hz pour chaque couleur des diodes et le temps d'acquisition d'une image est fixé à 10 ms.

4.2.3 Électrophysiologie

À l'aide d'une aiguille (gauge #20) un trou est effectué dans le crâne. À partir de ce trou, le côté de l'aiguille est utilisé pour couper une fenêtre d'environ 2 mm² dans le crâne et pour enlever la *dura* autour du lieu d'activation (bregma latéral 3 mm, longitudinal 0

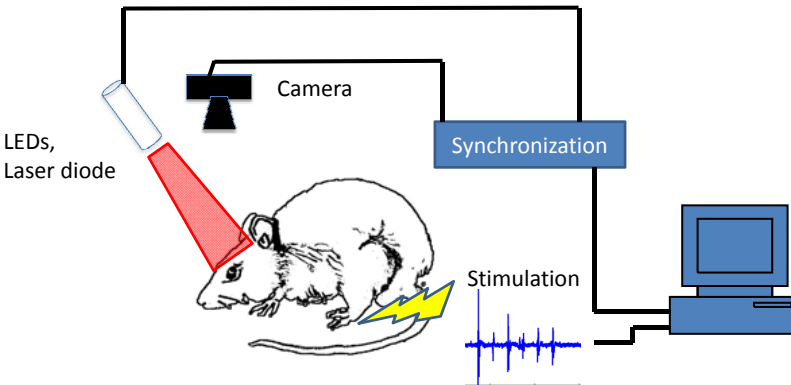


Figure 4.3: Aperçu du système d'illumination et d'acquisition.

mm). L'électrode de masse en Ag-AgCl est placée à l'intérieur du cuir chevelu à l'aide d'une pince alligator. L'électrode d'enregistrement est insérée dans la région d'intérêt à l'aide d'un micromanipulateur. Une électrode de référence de faible impédance et du même matériel que l'électrode d'enregistrement est insérée dans le tissu près de la zone imagée. Après un temps d'attente de quelques minutes pour laisser le temps à la préparation de se stabiliser, une stimulation électrique de la patte (0.3 ms à 1 Hz) est utilisée pour vérifier la présence de signal neuronal.

Note#1 Le trou dans le crâne et l'insertion de l'électrode réduit souvent l'amplitude de la réponse neuronale. Dans l'élaboration d'un protocole, il est préférable de faire un enregistrement d'IOI pour ensuite faire un enregistrement d'IOI simultanément avec les enregistrements neuronaux. Lorsque le RSB est suffisant, on privilégiera les enregistrements d'IOI et électrophysiologiques effectués lors d'un même protocole.

Note#2 L'électrode de masse en Ag-AgCl permet d'éviter que l'électrode se charge et produise des artéfacts hautes fréquences lors de l'enregistrement de signaux.

Note#3 L'enregistrement doit se faire en mode différentiel avec une électrode de référence. Si l'électrode de référence est connectée à la masse, Le signal *mode commun* de l'amplificateur devient élevé. L'artefact de stimulation peut se trouver augmenté jusqu'à deux ordres de grandeur et peut saturer le signal rendant presque impossible l'analyse des données.

4.3 Analyse des données

4.3.1 Prétraitement des données (écrémage)

Lors des enregistrements en IOI, plusieurs phénomènes non physiologiques peuvent venir corrompre nos données. Il arrive entre autres :

1. des changements d'intensité lumineuse lorsque les personnes se déplacent à proximité de l'animal ;
2. des vibrations du montage causées par les gens autour du montage ;
3. que du sang s'accumule dans la région imagée et qu'il faille nettoyer la région ;
4. que les paramètres de respirations soient changés lors de l'expérience.

Pour éviter que ces phénomènes transitoires viennent corrompre nos résultats, une procédure d'élimination des mauvaises stimulations(qui enlève une moyenne de $\approx 10\%$ des stimulations) est effectuée :

1. la région d'intérêt est sélectionnée approximativement ;

2. les courbes moyennées sont calculées et un algorithme enlève automatiquement toutes les courbes qui sont statistiquement trop différentes des autres courbes ;
3. les courbes sont affichées à l'écran et inspectées à l'oeil. Si une courbe a un comportement inattendu, elle est enlevée manuellement.

4.3.2 Traitement des données d'IOI

Avant d'obtenir les changements de concentrations d'hémoglobine, un traitement mathématique est effectué pour déterminer les changements d'intensité réfléchie. Suite à chaque stimulation i et pour chaque longueur d'onde mesurée λ , l'intensité réfléchie de base $R_{i,0}(\lambda)$ est mesurée en effectuant la moyenne des 3 s précédant la stimulation électrique de la patte. Pour chaque stimulation, le changement d'intensité est alors mesuré :

$$R_{\Delta,i}(\lambda, t) = \frac{R(\lambda, t) - R_{i,0}(\lambda)}{R_{i,0}(\lambda)}$$

et moyenné sur toutes les stimulations :

$$R_{\Delta}(\lambda, t) = \frac{1}{n} \sum_{i=1..n} R_{\Delta,i}(\lambda, t)$$

Ce signal est mesuré pour chaque pixel de l'image et servira par la suite pour déterminer les signaux de réflectance des régions d'intérêt.

4.3.3 Extraction des concentrations d'hémoglobine

La loi de Beer-Lambert est utilisée pour convertir les changements d'intensité réfléchie $R_{\Delta}(\lambda, t)$ en concentrations de HbO, HbR et HbT (Dunn et al., 2003; Mayhew et al., 1999; Kohl et al., 2000).

Tel que mentionné dans la section théorie, le lien entre les changements d'intensité lumineuse et de concentration est donné par l'équation 3.2 :

$$\Delta OD = \log \frac{R}{R_0} = \sum_i \varepsilon_i(\lambda) \Delta C_i D_a(\lambda)$$

Dans le cerveau et pour les longueurs d'onde utilisées, les deux principaux chromophores présents sont les molécules sang oxygéné HbO et désoxygéné HbR. On peut donc construire le système d'équation :

$$\Delta OD(\lambda) = (\varepsilon_{HbR}(\lambda) \Delta[HbR] + \varepsilon_{HbO}(\lambda) \Delta[HbO]) D_a(\lambda)$$

où $\Delta[HbO]$ et $\Delta[HbR]$ représentent respectivement les changements de concentration d'oxyhémoglobine et de déoxyhémoglobine. Le système peut s'écrire sous la forme matricielle :

$$\begin{pmatrix} \Delta OD_{\lambda_1} \\ \vdots \\ \Delta OD_{\lambda_n} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \varepsilon_{HbR,\lambda_1} D_{a,\lambda_1} & \varepsilon_{HbO,\lambda_1} D_{a,\lambda_1} \\ \vdots & \vdots \\ \varepsilon_{HbR,\lambda_n} D_{a,\lambda_n} & \varepsilon_{HbO,\lambda_n} D_{a,\lambda_n} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \Delta[HbR] \\ \Delta[HbO] \end{pmatrix}$$

Nos enregistrements utilisent trois longueurs d'onde, ce qui permet d'obtenir les changements de concentration à l'aide de la formule suivante :

$$\begin{pmatrix} \Delta[HbR] \\ \Delta[HbO] \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \varepsilon_{HbR,525} D_{a,525} & \varepsilon_{HbO,525} D_{a,525} \\ \varepsilon_{HbR,590} D_{a,590} & \varepsilon_{HbO,590} D_{a,590} \\ \varepsilon_{HbR,637} D_{a,637} & \varepsilon_{HbO,637} D_{a,637} \end{pmatrix}^+ \begin{pmatrix} \Delta OD_{525} \\ \Delta OD_{590} \\ \Delta OD_{637} \end{pmatrix}$$

où l'exposant $^+$ représente un pseudo-inverse de Moore-Penrose.

La concentration de sang totale est donnée par : $[HbT] = [HbR] + [HbO]$. Les changements de concentrations sont ensuite transformés en changements de concentrations en pourcentage à l'aide des concentrations au repos utilisées par Dunn et al. (2005) : $HbR = 100 \cdot [HbR]/40\mu M$, $HbO = 100 \cdot [HbO]/60\mu M$, $HbT = 100 \cdot [HbT]/100\mu M$.

4.3.4 Analyse par granularité laser

La méthode décrite par Dunn et al. (2005) est utilisée pour imager le débit sanguin. Pour chaque image laser, le contraste spatial laser est déterminé en calculant le ratio entre l'écart-type et l'intensité moyenne des pixels d'une région (fenêtre 5-5 pixels). Ensuite, le même traitement statistique que pour les images d'IOI est effectué. Le contraste de base C_0 est mesuré en effectuant la moyenne des 3 s précédant la stimulation. Pour chaque stimulation, le changement de débit $C_{\Delta}(t) = \frac{C-C_0}{C_0}$ est calculé et les résultats de toutes stimulations sont moyennés. Ces images sont ensuite converties en débit sanguin à l'aide de l'équation 3.4.

4.3.4.1 Étude de la résolution

Un des avantages mentionnés dans la littérature de la technique de granularité laser est sa grande résolution spatio-temporelle. Toutefois, même si la résolution de la caméra est élevée, la grande profondeur de pénétration de la lumière laser utilisée (720 nm) diminue grandement la résolution effective de l'appareil. De plus, le RSB de la technique est très faible, si bien qu'il est nécessaire d'effectuer le moyennage sur de grandes surfaces ce qui diminue encore la résolution spatio-temporelle de la technique. La figure 4.4 montre les mesures de débit effectuées par granularité laser. Pour des régions d'intérêt (RI) ayant une surface supérieure

à 0.5 mm^2 , le RSB est assez élevé. Par contre, pour une surface inférieure à 0.5 mm^2 , le bruit de mesure devient important par rapport au signal mesuré.

4.4 Post-traitement

4.4.1 Choix des régions d'intérêt

La région d'intérêt (RI) est déterminée à partir d'une carte de changement de débit sanguin. La région ayant le plus fort débit est identifiée. À partir d'une image anatomique à 637 nm , les veines de surface sont enlevées. Ensuite, à partir des cartes de débit au repos, les artères sous la surface sont enlevées de la RI. L'aire de la RI ainsi obtenue est d'environ 2 mm^2 .

4.4.1.1 Justification de la méthode employée

La technique pour déterminer la RI se base sur des considérations pratiques. La RI doit être le plus uniforme possible et avoir une aire suffisante pour augmenter le RSB du signal de granularité laser. Des régions plus ou moins grandes ont une réponse hémodynamique très similaire. Les veines ont une réponse décalée par rapport aux autres régions (voir figure 4.5). La RI doit donc être assez grande pour avoir un bon RSB pour les mesures de granularité laser mais elle doit être assez petite pour être près de la région où la réponse est de plus forte amplitude.

4.4.2 Techniques d'élimination de bruit physiologique

Les signaux physiologiques traités ici sont des oscillations naturelles du corps venant interférer avec les mesures de réponse hémodynamique se déroulant sur une période de 2 à 20 s. Le rythme cardiaque (0.5 Hz chez le rat) aura peu d'effet sur les mesures puisque sa fréquence est de beaucoup supérieure à la réponse hémodynamique. La respiration (1 Hz chez rat) n'a habituellement pas d'influence à cause de sa haute fréquence.

L'origine des ondes de Mayer (0.1 Hz chez l'humain, 0.4 Hz chez le rat) est encore sujet à controverse (voir revue de Julien (2006)). Les effets de celles-ci sont toutefois bien connus : une oscillation de l'activité des systèmes sympathique et parasympathique ainsi qu'une oscillation du rythme cardiaque et de la pression artérielle. Vu la fréquence à laquelle ces signaux se produisent, ils peuvent interférer avec la prise de mesures. De plus, les signaux physiologiques ont la fâcheuse tendance à se synchroniser avec les stimulations effectuées, ce qui complique l'analyse des résultats. Il est donc nécessaire de construire des protocoles expérimentaux qui

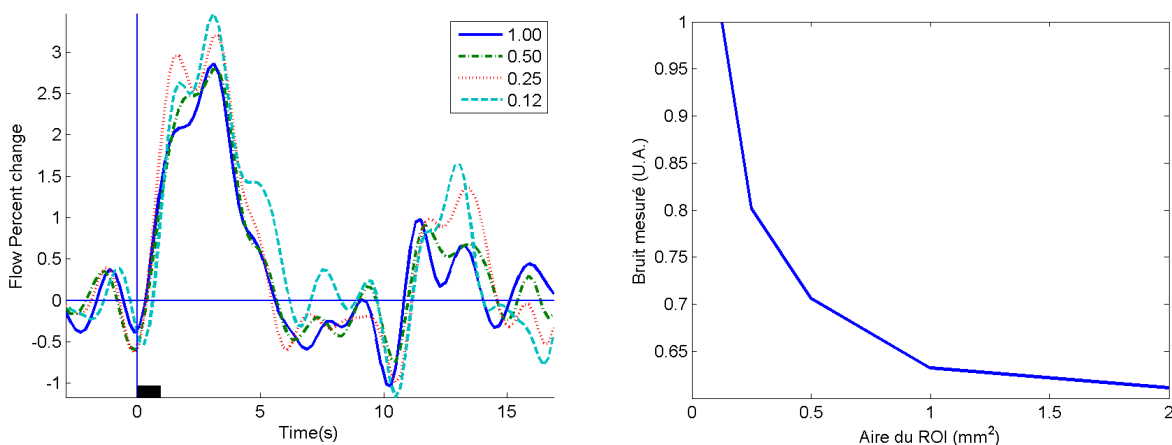


Figure 4.4: Effet de la taille (en mm^2) d'une RI en granularité laser. Gauche : Courbe de débit mesurée pour différentes tailles de RI. Droite : Erreur d'une mesure de débit (l'erreur est calculée en effectuant l'écart-type de 23 stimulations consécutives sur un même rat).

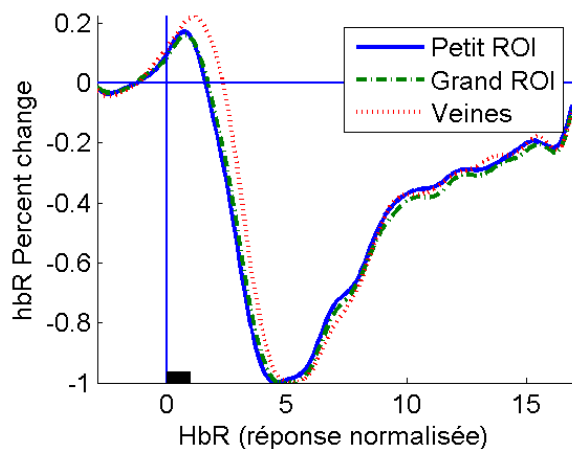


Figure 4.5: Effet du choix de la région d'intérêt sur la forme de la réponse hémodynamique. Les résultats montrent qu'une RI plus grande diminue l'amplitude mais ne diminue pas la forme de la réponse. Les veines ont une réponse décalée dans le temps. — Les mesures sont effectuées pour : 1) une RI de dimension régulière sans vaisseau sanguin, 2) une RI deux fois plus grande que la RI habituelle sans les vaisseaux sanguins 3) les veines près de la RI de dimension régulière.

permettent de réduire au maximum la contribution de ces oscillations au signal d'intérêt. Pour réduire le bruit physiologique, plusieurs techniques sont décrites ci-bas.

4.4.2.1 Technique de soustraction du bruit physiologique

Près du lieu d'activation, le signal mesuré M_p comporte un signal hémodynamique S_p et du bruit physiologique e_p . Loin du lieu d'activation, il est possible d'émettre l'hypothèse que le signal mesuré M_l est fait d'un faible signal hémodynamique $S_l \Rightarrow 0$ et d'un bruit physiologique très semblable dans tout le cortex $e_l \approx e_p$. Ce qui permet de reconstruire le signal hémodynamique $S = M_p - M_l \approx S_p$.

Toutefois, chez certains rats, le signal physiologique n'a pas le même comportement temporel en fonction du lieu d'enregistrement $e_l \neq e_p$. Il arrive donc que le signal S soit plus bruité que le signal S_p . De plus, une réponse hémodynamique de faible amplitude est souvent présente sur S_l . Dans ce cas, le signal S aura une plus faible amplitude que M_p et donc un RSB plus faible.

Ainsi, cette technique a permis de réduire le bruit physiologique chez certains rats, mais a donné des résultats difficilement interprétables sur d'autres rats. La technique a donc été laissée de côté.

4.4.2.2 Technique d'analyse par composante principale

Au début du projet, des tests ont été faits par analyse par composante principale (ACP), à l'aide de la fonction Matlab *princomp*. Une dimension de la matrice à décomposer correspondait aux changements de concentration d'hémoglobine de chaque pixel imagé et l'autre dimension correspondait au temps par rapport à la stimulation électrique (période de ≈ 20 s et données moyennées sur 40 stimulations). Un premier problème avec cette analyse est le temps de calcul plus élevé. Toutefois, le principal problème est qu'il est difficile de donner une interprétation claire des résultats obtenus par ACP. L'ACP devrait permettre de différencier le bruit physiologique de la réponse hémodynamique, toutefois la technique a les mêmes problèmes que la technique précédente lorsque le comportement du rat ne suit pas exactement le modèle de bruit établi. Il est à noter que lors de bons enregistrements, le RSB de la réponse hémodynamique est suffisamment élevé. Nous avons donc tenté de maximiser le RSB lors des expériences et mis de côté les animaux avec un faible RSB plutôt que d'utiliser des techniques permettant d'enlever le bruit physiologique.

4.5 Bruit

Le montage optique possède un très faible niveau de bruit. Dans un enregistrement standard, le bruit de mesure provenant du montage (principalement la caméra et les diodes) est d'un ordre de grandeur inférieur au bruit physiologique mesuré.

Pour ce qui est du bruit physiologique, les figures 4.1 et 4.2 montrent que le RSB est très variable d'un rat à l'autre. Deux causes simultanées venaient diminuer le RSB. Certains rats avaient un signal d'amplitude très faible et d'autres avaient un bruit physiologique très élevé. Selon les expériences, le RSB pouvant passer d'une valeur de 1 à 20. Dans le cadre de nos expériences, les données ayant un RSB inférieur à 5 étaient habituellement mises de côté.

4.6 Observations utiles

4.6.1 Choix de l'anesthésiant

L'anesthésiant utilisé dans les expériences a toujours été l' α -chloralose. Celui-ci est utilisé pour conserver la réponse neuronale et la réactivité vasculaire (Bonvento et al., 1994). De plus, il était possible d'injecter l'anesthésiant en continu, ce qui permettait d'avoir une préparation stable dans le temps. Toutefois, cet anesthésiant a un très faible pouvoir analgésique, si bien que le comité éthique de l'hôpital du Sacré-Coeur de Montréal envisage d'interdire l' α -chloralose. Un anesthésiant de rechange sera donc à envisager. Franceschini et al. (2010) décrit l'effet de plusieurs anesthésiants sur l'activité neuronale, ce qui est une bonne base pour trouver un anesthésiant de remplacement. Parmi ces anesthésiants, l'isoflurane semble être celui qui conserve la plus grosse réponse hémodynamique. Pour faire les enregistrements neuronaux, il faut toutefois utiliser une faible concentration d'anesthésiant. Une seule expérience a été effectuée et le degré d'anesthésie était difficile à maintenir stable. Le rat peut donc se réveiller très rapidement ce qui est problématique vue la situation du rat dans l'appareil stéréotaxique et complique le déroulement d'une expérience.

4.6.2 Utilisation ou non du pancuronium

Les premières expériences sur les rats sous RC étaient effectuées sous pancuronium. C'est un paralysant musculaire qui évite d'avoir des artefacts de mouvement lors des stimulations électriques et inhibe la respiration naturelle du rat.

4.6.2.1 Impact de la stimulation électrique

Toutes les stimulations de la patte sont effectuées près du seuil musculaire, le mouvement de la patte demeure très faible et ne produit pas d'artefact visible dans les enregistrements

dans le cerveau. Lors des enregistrements de la moelle épinière, les stimulations électriques du nerf sciatique produisaient de gros mouvements des pattes et de la moelle épinière ce qui compliquait l'analyse des résultats. Les stimulations électriques de la patte arrière produisaient aussi un mouvement mais de plus faible amplitude qui ne gênait habituellement pas les enregistrements.

Lors des stimulations électriques, la procédure implique de déterminer le seuil musculaire et d'injecter le pancuronium par la suite. Ce dernier empêche d'observer les contractions musculaires, ce qui est problématique : 1) si l'électrode de stimulation est déplacée, 2) si le stimulateur est défectueux ou, 3) si le seuil musculaire change en cours d'expérience.

4.6.2.2 Impact sur la respiration

Les mesures d'IOI sont très sensibles au degré d'oxygénation du rat. Le pancuronium inhibant le réflexe de respiration, le rat peut se retrouver rapidement en hypoxémie ou en d'hyperoxémie. De plus, le métabolisme du rat change durant une expérience, si bien que les paramètres de respirations avant l'injection du pancuronium ne sont pas une indication des paramètres de respiration à conserver durant le reste de l'expérience. Selon nos expériences, le niveau de CO_2 expiré n'est pas non plus un très bon indicateur du degré d'oxygénation du rat.

À moins d'avoir une bonne mesure de la saturation d'oxygène du rat, le pancuronium ne devrait pas être utilisé. Un oxymètre pourrait permettre d'utiliser de nouveau le pancuronium, ce qui pourrait peut-être aider à contrôler les oscillations, mais il est pour l'instant difficile de tirer des conclusions vue la piètre qualité des résultats obtenus par deux oxymètres testés à Sacré-Coeur.

4.6.3 Contrôle de la stimulation

4.6.3.1 Stimulation du nerf sciatique

Pour des raisons historiques, les premières stimulations étaient effectuées sur le nerf sciatique. Ces stimulations étaient difficilement ajustables car, près du seuil musculaire du nerf sciatique, une petite augmentation de courant provoque une très grosse augmentation de la contraction musculaire. Les stimulations du nerf sciatique produisaient de faibles réponses hémodynamiques en plus de produire une augmentation importante de la pression et du rythme cardiaque. Ces stimulations sont donc à éviter.

4.6.3.2 Ajustement de l'intensité de la stimulation

Les effets des stimulations de durées et de fréquences différentes sur la réponse hémodynamique ont été présentés à la section 2.5.3. Dans notre cas, les expériences ont été effectuées en utilisant des intensités près du seuil musculaire. Il est à noter que la réponse neuronale (électrophysiologique) était visible pour des intensités de stimulation équivalant au tiers du seuil musculaire. Toutefois, dans ces conditions, le RSB est très faible ce qui complique l'analyse des résultats. Près du seuil musculaire, les stimulations de la patte avant produisent peu de changements physiologiques (rythme cardiaque et pression sanguine). Les stimulations des pattes arrières semblaient stimuler le nerf sciatique et produisaient souvent des changements physiologiques. Les stimulations ont donc été mises de côté pour faciliter l'analyse des résultats.

Certains rats n'avaient pas ou très peu de réponse hémodynamique. Dans ces conditions, le fait d'augmenter (doubler) le seuil de stimulation avait habituellement peu d'effet. Il semble donc que certains rats ne soient pas dans un état réceptif aux stimulations électriques mais la cause reste ambiguë.

4.6.4 Taux de succès des expériences d'IOI

Les articles d'IOI indiquent habituellement dans la méthodologie un nombre de rats utilisés qui est égal au nombre de rats présentés dans les tableaux. Toutefois, la technique d'IOI n'est pas une technique infaillible et le succès d'une expérience effectuée par un utilisateur expérimenté ne dépassait pas 80%. Ces résultats semblent similaires à ce qui est obtenu par d'autres groupes de recherche (information recueillie lors de discussions informelles).

Les causes d'échec peuvent être nombreuses :

1. Chirurgie trop longue ;
2. Mauvaise ventilation du rat durant la chirurgie ou lors de l'expérience ;
3. Mauvaise anesthésie du rat durant la chirurgie ou lors de l'expérience ;
4. Perte de sang importante lors de la chirurgie ;
5. Coma possible de l'animal.

En somme, ces situations se sont toutes présentées durant les 3 ans du doctorat et certains rats ont donné d'excellents résultats malgré tout. À l'opposé, une préparation animale semblant idéale pouvait ne produire aucun signal hémodynamique.

4.6.4.1 Durée d'une expérience

Il est préférable d'effectuer la chirurgie et l'enregistrement le plus rapidement possible pour éviter un stress inutile à l'animal. Durant nos expériences, la pression sanguine et le rythme cardiaque diminuait habituellement de façon assez linéaire durant toute l'expérience (diminuant de 10 à 30 mmHg sur 3 heures). Ce comportement semble indiquer qu'il y a une trop grande injection d'anesthésiant. Toutefois, l' α -chloralose a un long temps d'action et le fait d'arrêter l'injection d'anesthésiant pendant plus de 30 minutes n'affectait que très légèrement le rythme cardiaque et la pression sanguine. Même pour un degré d'anesthésie plus faible, il semble que la condition du rat se détériore avec le temps (l' α -chloralose détériorerait les reins) ce qui incite à faire les expériences le plus rapidement possible.

Toutefois, il est possible d'obtenir de bons résultats après 3 heures d'expériences pour certains rats. De plus, en changeant les paramètres de respiration, il a été possible d'obtenir une réponse hémodynamique après 2 heures d'enregistrement infructueux. Ce résultat est en accord avec des mesures effectuées chez le rat dans le laboratoire de Christian Casanova où des réponses hémodynamiques apparaissent après plusieurs heures d'essais infructueux.

4.7 Conclusion

Tout au long du doctorat, nous avons tenté d'uniformiser la procédure d'enregistrement. Dans les dernières expériences, deux points sont restés à la discrétion de l'utilisateur et pourraient induire un biais dans le traitement des données : le choix de la RI et les paramètres de ventilation et d'anesthésiant.

Le choix de la RI étant fait manuellement, il serait utile d'uniformiser cette procédure même s'il a été mentionné que cet aspect avait un effet négligeable sur les données. Le plus gros problème rencontré réside dans la qualité des mesures. Il y a un compromis à faire entre l'uniformisation des procédures et le taux de succès des expériences (RSB). Les paramètres de ventilation et d'anesthésie étaient souvent changés en cours d'expérience pour tenter d'améliorer le RSB, ce qui a pu induire une plus grande variabilité dans l'état des animaux.

À l'avenir, tout ce qui pourra être fait pour réduire le bruit physiologique (principalement les oscillations) aidera lors de l'analyse des résultats. Il serait avantageux de continuer d'améliorer les paramètres d'oxygénation du rat en optimisant la ventilation et en utilisant un oxymètre de pouls efficace. L'autre avenue serait d'optimiser le degré d'anesthésie ou d'utiliser un autre anesthésiant. Il serait aussi nécessaire de toujours avoir un signal hémodynamique de haute amplitude, mais la façon d'y arriver est difficile à imaginer.

La dernière étape d'amélioration envisageable est d'améliorer le traitement mathématique.

Pour ce faire, SPM semble le choix idéal. Le seul inconvénient est le temps requis pour effectuer la programmation et le traitement des données.

CHAPITRE 5

Couplage cérébrovasculaire chez le rat Lou/c : un modèle de vieillissement réussi

5.1 Description de l'article

Cet article a été soumis à Neuroimage en décembre 2010, a été publié en juin 2011. Cet article traite principalement des changements hémodynamiques mesurés par imagerie optique intrinsèque au cours du vieillissement chez le rat LOU_c/RQRV. Plusieurs mesures de réponses hémodynamiques ont été effectuées chez l'humain dans le cadre du vieillissement, mais celles-ci sont généralement partielles et ne permettent pas d'enregistrer plusieurs variables de la réponse hémodynamique simultanément. En utilisant le montage d'IOI, il a été possible d'enregistrer les changements d'hémoglobine de déoxyhémoglobine, de débit sanguin et d'activité neuronale (LFP) pour des stimulations de durées différentes. À notre connaissance, cette étude est la première qui utilise l'IOI pour étudier les changements de la réponse hémodynamique au cours du vieillissement.

Dans cette étude, l'utilisation du rat LOU, un modèle de vieillissement réussi, a l'avantage de faciliter la gestion des anesthésiants et de comparer les différents groupes d'âge puisque la masse varie peu au cours du vieillissement. Par contre, en étudiant un modèle de vieillissement réussi, il est possible que les changements hémodynamiques soient plus faibles pour cette souche que pour la souche de rat Wistar habituelle.

Les résultats montrent que les mesures d'IOI permettent d'enregistrer les changements hémodynamiques dans le cadre du vieillissement tant du point de vue de l'amplitude de la réponse, de la forme temporelle de la réponse hémodynamique que des modifications spatiales de la réponse hémodynamique. Les principaux changements hémodynamiques sont déjà présents dans le groupe d'âge de 24 mois et augmentent ensuite très légèrement pour le groupe d'âge de 40 mois.

5.2 Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the Lou/c rat: a model of healthy aging

S. Dubeau^a, G. Ferland^{b,d}, P. Gaudreau^c, E. Beaumont^d, F. Lesage^{a,e}

^a Electrical Engineering Department, Ecole Polytechnique Montréal, Montreal, Quebec, Canada

^b Nutrition Department, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

^c Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) Research Center and Department

of Medicine, University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada

^d Research Center, Hopital du Sacré-Coeur de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

^e Research Center, Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec, Canada

Keywords: Intrinsic optical imaging, Cerebral blood flow, Somatosensory cortex, Aging, Sex, LOU rat

5.3 Abstract

The LOU/c rat is an inbred strain considered a model of healthy aging. It exhibits a longer free disease lifespan and a low adiposity throughout life. While this animal model has been shown to maintain eating behavior, and neuroendocrine, metabolic and cognitive functions with age, no study has yet investigated vascular correlates in this model of healthy aging. In the present work, multispectral optical imaging was used to investigate the hemodynamic response in the somatosensory cortex of LOU/c rats following forepaw stimulation in three age groups, 4, 24 and 40 months. Results indicate reduced hemodynamic responses in the contralateral somatosensory cortex between young (4 months) and older groups following stimulation. This decrease was associated with an increase in the spatial extent of activation. The ipsilateral response did not change with aging leading to decreased laterality. Estimations of the relative change in the local cerebral metabolic rate of oxygen during stimulation based on multimodal data showed no significant change with age. The exponent describing the relation between blood volume and blood flow changes, Grubb's parameter, did display a significant change with age which may suggest vessel compliance modifications. This work finds its relevance in recent findings underlying the importance of vascular changes with aging and its impact on neurodegenerative disease.

5.4 Introduction

Increased life expectancy is not always accompanied by an extension of healthy life but rather is associated with increased age-related deficits, including cognitive impairment. Understanding the causes of these impairments is essential for the development of neuroprotective interventions. Equally important is the development of methods to identify, *in vivo*, early biomarkers of neural changes. In this endeavor, brain imaging techniques based on hemodynamics have a multifaceted role to play in view of the link between vascular changes and cognitive functions. Although only certain domains of cognitive function are affected in normal aging, age remains a powerful risk factor for the cognitive dysfunctions and late onset

Alzheimer disease (AD) (Iadecola et al., 2009). It is also recognized that hypertension, aging and AD are intertwined and a growing body of evidence is emerging, showing that vascular dysfunction is a biomarker of ensuing neuronal dysfunction (Erkinjuntti and Gauthier, 2009; Huettel et al., 2001; Iadecola, 2010).

Vascular correlates of cognitive impairments and dementias have long been observed in humans (Nagai et al., 2010; Dickstein et al., 2010). In a randomized cognitive intervention, increases in regional basal blood flow (CBF_0) in the prefrontal cortex were related to improved executive function cognitive performance in healthy 65-75 year-olds despite constant gray matter volume (Mozolic, 2010). Memory performance was also recently correlated to hippocampal CBF_0 in healthy older adults (61-86 years) (Heo et al., 2010). Age-related differences in the hemodynamic response to functional activation observed in neuroimaging studies are either a consequence of modified vascular reactivity or changes in neural and metabolic response to stimuli, or both (Aizenstein et al., 2004; Ances et al., 2009; Restom et al., 2007; D’Esposito et al., 2003; Eppinger et al., 2007; Fladby et al., 2004; Herrmann et al., 2006; Langenecker et al., 2004; Mehagnoul-Schipper et al., 2002; Zysset et al., 2006). Aged brains show less lateralized and less specific regions of activation (Lu et al., 2008; Li et al., 2009), with greater response variability and noise (D’Esposito et al., 2003), and different effect sizes, which may be attributed to brain atrophy, or increased spatial variability. Changes in the temporal dynamics of the response have also been observed, though not consistently (Richter and Richter, 2003).

However, limitations of various human brain imaging techniques have hampered our ability to quantify and disentangle the different causes of observed changes with aging. In functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI), Positron Emission Tomography (PET) and optical imaging studies, assumptions on relationship between hemodynamic and metabolic parameters are typically made (Buxton et al., 1998; Hyder et al., 1998; Jones et al., 2001). Amongst those assumptions, the relationship between cerebral blood flow (CBF) and blood volume (CBV) is typically constrained to derive metabolic estimations from fMRI as both components are typically not measured simultaneously. Biophysical models of the hemodynamic response support the hypothesis that this relation partly reports on the effective Windkessel compliance in a given imaging voxel (Huppert et al., 2007). While a direct link between the effective Windkessel compliance and microscopic vessels compliance has not been established, it is not clear how previous assumptions on the CBF-CBV relation can be translated in studies where vessel compliance may change, such as in the case of aging.

While most fMRI studies use the BOLD signal in healthy humans, the increased interest in studying disease states and aging also led to the development of techniques to acquire multiple surrogates of the hemodynamic response. For example, in humans, calibrated BOLD

approaches have been developed to diminish the reliance on model assumptions (Hoge et al., 2005; Lu et al., 2003; Kida et al., 2000). Changes in metabolism and anatomy with age may influence the BOLD signal as it depends on CBF and cerebral metabolic rate of oxygen consumption (CMRO_2). The importance of BOLD signal calibration in aging is exemplified by recent studies presenting conflicting results whereby some observed a decrease in the magnitude of the BOLD signal with aging (Buckner et al., 2000; Raemaekers et al., 2006; Tekes et al., 2005) while others did not observe significant differences (Aizenstein et al., 2004; Huettel et al., 2001). Recent attempts at calibration used breath-holding normalization to decrease data variability (Handwerker et al., 2007) or measures of CBF and models to estimate CMRO_2 (Restom et al., 2007). Few studies investigated calibrated signals in aging with the notable exception of (Ances et al., 2001, 2009).

In animals, multispectral intrinsic optical imaging has been developed and combined with measures of flow to enable the measurement of distinct hemodynamic components in the same experiment (Jones et al., 2001; Culver et al., 2003; Durduran et al., 2004). In particular, intrinsic and speckle flow optical imaging can be combined to gather simultaneous data on blood flow, volume and oxygenation. Based on these measures, both the Grubb relation (Grubb et al., 1974), describing the CBF-CBV relationship and CMRO_2 can be estimated from imaging data removing some of the ambiguities alluded to above (Dunn et al., 2005). Optical techniques thus provide a platform to study aging in various animal models.

Observations in humans described above find a parallel in animal models. Using imaging techniques, structural alterations to the hippocampus were quantified with MRI in 3-24 months old Fisher 344xBrown Norway hybrid rats (Driscoll et al., 2006). Cerebral perfusion has also been shown to be an indicator of cognitive impairment in rats (Mitschelen et al., 2009). Few studies have directly investigated functional response and associated biomechanical properties of cerebral vessels with aging.

Beyond anatomical and vascular changes, aging in humans is also associated with changes in how the brain processes stimuli. Notably, a vast body of literature recently emerged in humans demonstrating that aging is associated with a reduction in hemispheric asymmetry. In the phenomenon described as *Hemispheric Asymmetry Reduction in Older Adults* (HAROLD) (Cabeza, 2002), strongly left-lateralized activations of the frontal cortex in younger adults evolve towards bilateral frontal activations in older adults with preserved abilities. In other words, elderly people with preserved cognitive abilities activate not only the left hemisphere but also homologous regions in the right hemisphere when they perform encoding memory tasks for example. Hemispheric asymmetry is however much less documented in animal models. Biochemical markers were studied (Ramirez-San-Juan et al.,

2008) and L/R asymmetry of cholinergic markers and their age dependence were found in various brain structures (Kristofikova et al., 2004, 2010). We are not aware of any functional imaging study investigating response asymmetry in rats.

The LOU/c rat, an inbred strain of Wistar origin, represents an animal model of healthy aging. Salient features include longer lifespan free of disease, a low adiposity throughout life and preserved neuroendocrine and metabolic functions (Veyrat-Durebex et al., 2005; Alliot et al., 2002; Kappeler et al., 2004; Duque et al., 2009) and memory capacities when compared to most laboratory rat strains (Kollen et al., 2010). While this model has been characterized in terms of metabolic and hormonal functions, no study has yet investigated vascular correlates. The experiments performed here aim to determine whether functional responses, assessed in the anesthetized LOU/c rat, are modified with age and to characterize the magnitude of these changes. Since our experimental approach allows the measurement of multiple hemodynamic components and their dynamics, we extend these observations to evaluate: 1) changes in metabolic rate of oxygen with aging, 2) estimations of the CBF-CBV relationship as a function of age (Grubb relation) and, 3) changes in hemispheric asymmetry with aging.

5.5 Material and methods

5.5.1 Animals and diet

Young (4-5 months), old (24-32) months and very-old (40-41 months) male and female LOU/c rats were studied. They were obtained from the Aging LOU Rat Colony of the Quebec Network for Research on Aging (RQRV: www.rqrv.com) (LOU/c/rqrv). The LOU/c/rqrv (LOU) young females were virgins. Their ancestors were obtained at three months of age, from Professor Josette Alliot's colony (LOU/c/jall, University Blaise Pascal, Clairmont-Ferrand, FR). Breeding was performed in the CHUM research center animal facilities since then. Longevity characteristics of the LOU rats are similar to those previously reported (Alliot et al., 2002). The LOU rat colony is fed the same chow regimen as Professor Alliot's colony. After weaning at 21 days, rats are fed the R03 growing diet (6% fish protein, 20.2% vegetable protein, 4.6% vitamins and mineral mixture, 69.2% cereals: 3.2 kcal/g) for three weeks and subsequently with the R04 maintenance diet (4% fish protein, 8% vegetable protein, 4.1% vitamins and mineral mixture, 83.9% cereals: 2.9 kcal/g) (SAFE, Augy, FR). They were kept in temperature (22 °C), humidity (65%) and lighting-controlled rooms (12:12 light-dark cycle, light on at 07:00) and had free access to chow and water.

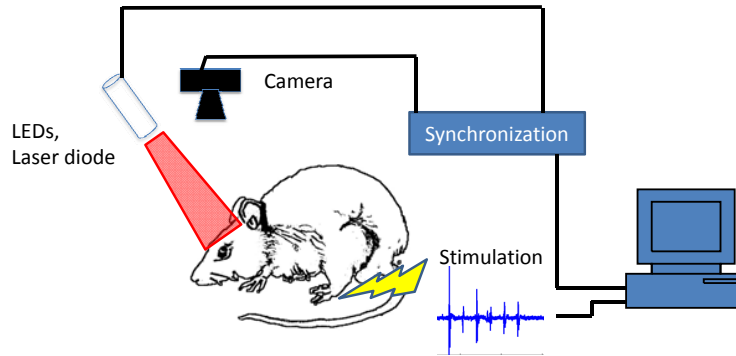


Figure 5.1: Overview of the imaging and stimulation system. LEDs and the laser diode are synchronized to the acquisition system so that each image corresponds to either a single wavelength or laser illumination for speckle.

5.5.2 Surgical procedure

All procedures were conducted according to the recommendations of the Canadian Council for Animal Care, and were approved by the animal ethics committee of *Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal* Research Center. A total of $N=29$ LOU rats were used: 12 young (Y, 4.9 ± 0.2 months, 6M, 6F), 10 old (O, 26.6 ± 3.1 months, 4M, 6F) and 7 very old (VO, 40.7 ± 0.2 months, 5M, 2F). The animals were initially anesthetized with isoflurane (5%) and rectal temperature was monitored and maintained at 37°C with a heating blanket (Harvard Apparatus Canada, St-Laurent, QC, CA). A catheter was inserted in the femoral artery to monitor blood pressure and another one was inserted in the femoral vein for α -chloralose injection (10g/L in saline, Sigma Aldrich, ON, CA).

Rats were mechanically ventilated (Kent Scientific, CT, USA) *via* a tracheotomy using ambient air. Breathing rate was maintained around $50 \pm 4/\text{min}$ using a constant pressure of $6.8 \pm 0.3 \text{ mm H}_2\text{O}$. End tidal expired CO_2 concentration (Capstar, GENEC, QC, CA) and heart rate (Nihon Kohden, Japan) were monitored continuously. Rats were then positioned on a stereotaxic frame (WPI, FL, USA) fitted with atraumatic ear bars. A section of 1 cm^2 over the skull was exposed and a region around bregma (AP: 0 mm, DV: 0mm, L: 3 mm on each side) was thinned to translucency (approx. 0.2 mm) with a rotary tool bilaterally on the cortex. Two needle electrodes were then inserted on each side of the left forepaw for stimulation. The muscular excitation threshold was determined with a 0.3 ms pulse.

After the surgery, isoflurane administration was stopped and replaced with α -chloralose (first a bolus of 50 mg/kg in 7 min, then 40 mg/kg/h) and time was allowed for the animal to stabilize (10 min). Mineral oil was added to the exposed skull to prevent drying and to facilitate camera focus. The rats were anesthetized for 4 h and sacrificed at the end of the experiments. Serum and selected tissues were harvested for future use.

5.5.3 Stimulation protocol

Stimulations were generated by an electrical stimulator (A-M system #2200, WA, USA) with stimulation intensity controlled by custom Labview software. As a first step, the current intensity associated with the muscular threshold was determined. During imaging, stimulation current amplitude was fixed to 0.9 fold the measured muscular threshold (average 1.05 ± 0.15 mA), and always maintained between 0.7 and 1.5 mA.

Each animal was subjected to two successive stimulation protocols. First two interlaced trains of either three or six electrical pulses were used (3 Hz, 300 μ s, 0.7-1.5 mA) to generate 1 s or 2 s stimulation trains. Stimulation trains were repeated every 20 s with a jitter of 3 s to avoid systemic synchronization (e.g. Mayer waves (Julien, 2006)). Second, a longer train of 30 electrical pulses (10 s) repeated every 30 s with a jitter of 3 s was applied. In both protocols, stimulations were repeated 40 times.

5.5.4 Optical recording

The setup is illustrated in figure 5.1. The images were acquired with a 12 bits CCD camera (CS3960DCL, Toshiba Teli, ON, CA) with a 1392×1040 resolution and a CCD pixel size of 6.45 μ m. A Labview interface (National Instruments, TX, USA) was used to control the camera, record the images, synchronize the acquisition and electrical stimulation, and change the illumination. A Nikkor Macro lens ($f = 50$ mm) was used to get an effective resolution of 17.4 μ m and a sufficiently small focal depth (350 μ m). Lens focus was performed on veins and arteries located at the surface of the somatosensory cortex. The camera aperture was set to 5.6. Functional images were recorded with a multiple wavelength flashing illumination (525, 590, 637 nm, respective half intensity bandwidth: 33, 10 and 13 nm) produced by high power Light Emitting Diodes (LEDs, Optek Technologies, TX, USA). The illumination was adjusted so that no part of the cortex saturated the camera for any of the wavelengths. For laser speckle imaging, a near infrared 780 nm laser diode was used and the camera aperture of 5.6 was such that the pixel size matched the speckle size (Briers, 2001; Briers et al., 1999). The three illumination LEDs and laser were interlaced, leading to a final frame rate of 5 Hz for each wavelength. The camera's shutter speed was set at 10 ms.

5.5.5 Electrophysiology

Following the second stimulation protocol and optical imaging, the previously thinned section of the skull was drilled with a #18 gauge needle and a microelectrode was inserted in the somatosensory cortex (coordinates from bregma: AP: 0 mm, DV: 0 mm, L: 3 mm). The first stimulation protocol was then repeated a second time and the Sensory Evoked

Potentials (SEPs) were measured simultaneously with the IOI recordings. SEP recordings were performed on 23 out of the 29 rats.

5.5.6 Image analysis

Given the small amplitudes of the optical signal variations, the 40 stimulations of 20 s were averaged. The underlying hypothesis was that the expected signal is highly correlated to the stimulation while the surrounding physiological noise is not. For all recorded signals, the baseline reflectance (R_0) was first estimated by averaging the signal 3 s prior to stimulation considering that the hemodynamic response from the previous stimulus had reached its resting level. Variations with respect to this baseline were then averaged across all stimulations at every spatial point.

5.5.7 Spectroscopic optical imaging

Spectroscopic imaging analysis is similar to previous published work (Dunn et al., 2003). In brief, reflectance signals from the LEDs are collected with the CCD camera and are converted to changes in absorption $\Delta A = \log(R/R_0)$. A pseudo-inverse and the modified Beer-Lambert law is then used to extract relative changes in deoxyhemoglobin (HbR), and oxyhemoglobin (HbO) using:

$$\Delta A(\lambda) = \sum \varepsilon_i(\lambda) \Delta C_i D(\lambda)$$

Where ΔA represents the changes in absorptions for the three principal wavelengths used, $[190]_i$ and C_i are the molar extinction coefficients and concentrations for the two principal chromophores (HbO and HbR). $D(\lambda)$ is the differential path length factor, taking into account the different path lengths travelled by light depending on the scattering and absorption properties of tissue. $D(\lambda)$ was taken from Dunn et al. (2005) and shorter and longer wavelengths were extrapolated from Kohl et al. (2000). Baseline concentrations of 60 μM and 40 μM for HbO and HbR were assumed (Dunn et al., 2005).

Variations ΔA were first averaged over the 40 stimulations. Bloc averaged variations were then further low pass filtered in time at 0.3 Hz (zero phase-shift fifth-order Butterworth filter) to suppress high frequency noise mainly due to animal respiration.

5.5.8 Speckle imaging

Blood flow was computed by calculating the spatial fluctuations of the speckle produced by the random mutual interferences of the coherent light originating from a laser diode. Moving scatterers create a time varying speckle pattern. Integrated over the exposure time

of the camera, these fluctuations induce a blur in the raw image that can be quantified by the spatial contrast, defined as the ratio of the standard deviation to the mean intensity in a given spatial area. The contrast depends on the autocovariance of the speckle pattern $C_t(\tau)$ and on the exposure time of the camera T , and can be related to the correlation time τ_c of the speckle (Briers, 2001). The correlation time is inversely proportional to the mean velocity of the scatterers ν . 5×5 pixel regions were used to calculate the contrast image and the relative variation of the blood flow $\Delta\nu/\nu_0$ was obtained by the following formula (Dunn et al., 2001, 2005; Duncan and Kirkpatrick, 2008) :

$$C = \frac{\sigma}{\langle I \rangle}, \quad -2\Delta C/C_0 \cong \Delta v/v_0 \cong \Delta \text{CBF}/\text{CBF}_0$$

The value $\Delta\nu/\nu_0$ takes into account both static and moving scatterers and is not directly related to CBF. Laser speckle imaging is thus expected to underestimate CBF by less than 5% (Luckl et al., 2010). This will not affect the conclusions of the comparison between different groups performed below, so in the following both quantities were assumed to be equal.

5.5.9 Grubb's exponent

According to Grubb et al. (1974), CBF and cerebral blood volume (CBV) can be related by a simple power law equation (the law estimated in the original paper was). Under the hypothesis of constant hematocrit (Sheth et al., 2004), the relation between CBF and CBV can be computed from optical data and is expressed as:

$$G = \log \left(\frac{\Delta \text{HbT} + \text{HbT}_0}{\text{HbT}_0} \right) / \log \left(\frac{\Delta \text{CBF} + \text{CBF}_0}{\text{CBF}_0} \right)$$

where G is the Grubb exponent.

5.5.10 Cerebral metabolic rate of oxygen consumption

The changes in the cerebral metabolic rate of oxygen consumption (CMRO_2) were calculated from the images of CBF, total HbR and HbO using the relationship (Jones et al., 2001; Mayhew et al., 2000):

$$1 + \frac{\Delta \text{CMRO}_2}{\text{CMRO}_{2,0}} = \left(1 + \frac{\Delta \text{CBF}}{\text{CBF}_0} \right) \left(1 + \gamma_R \frac{\Delta \text{HbR}}{\text{HbR}_0} \right) \left(1 + \gamma_T \frac{\Delta \text{HbT}}{\text{HbT}_0} \right)^{-1}$$

The subscript “0” indicate the baseline level and γ_r and γ_T are vascular weighting constant accounting for the fact that changes in hemoglobin are recorded in arterial and venous

compartment while equation (3) is defined only in the venous compartment. Values for the vascular weight coefficients used in the computations below were fixed to 1. However, we also varied the weighting coefficients between 0.5 to 1.5 to study their impact following previous work (Dunn et al., 2005).

5.5.11 Statistical analysis

Parameters were compared between age groups by means of one-way ANOVA along with post-hoc Tuckey-Kramer multiple comparisons test. P values <0.05 for ANOVA were considered as significant. Statistical significance of post-hoc analyses were defined as values of $P<0.05$ (*), $P<0.01$ (**), and $P<0.001$ (***). Student's t test was used to compare sex difference for each age group.

5.6 Results

A total of 29 animals were used in the experiments. The age and sex distribution is shown in Table 1 along with weight and measured heart rate during experiments. Animals were separated in three age groups, Young (Y), Old (O) and Very Old (VO).

5.6.1 General

Reflectance signals measured following electrical forepaw stimulation were converted to HbO, HbR, and total hemoglobin (HbT) measurements. Typical results are shown in figure 5.2. Following a 1s electrical stimulation a very small increase in HbR was observed in a localized part of the contralateral region of the brain around bregma (AP: 0 mm, DV: 0 mm, L: 3 mm, figure 5.2B, 5.2C). This initial HbR response peaked around 1.1 s. A decrease in HbR was subsequently observed on a larger section of the contralateral region peaking at 4.7 s. HbO, HbT and cerebral blood flow (CBF) responses were monophasic and peaking at 3.7, 2.9 and 2.9 s respectively (figure 5.2C). These results are consistent with expected data from biophysical models of the hemodynamic response and are similar to results from other groups

Table 5.1: Age, sex, weight and heart rate (beat/min) of LOU rats used in the imaging experiments. Heart rate was averaged over the experiment time period. Data were expressed as means \pm SD

	Y, female	O, female	VO, female	Y, male	O, male	VO, male
N	6	6	2	6	4	5
age (months)	4.9 \pm 0.2	26.9 \pm 3	40.7 \pm 0.1	4.9 \pm 0.2	24.9 \pm 0.7	40.8 \pm 0.2
Body weight (g)	174 \pm 5	186 \pm 15	204 \pm 30	283 \pm 15	363 \pm 23	320 \pm 10
heart rate (bpm)	398 \pm 13	316 \pm 27	389 \pm 65	408 \pm 6	345 \pm 27	342 \pm 22

measured in young Sprague-Dawley rats (Devor et al., 2003; Dunn et al., 2005; Huppert et al., 2007). fMRI human studies (Handwerker et al., 2007) show a larger variability in aged groups. In our data, the variability of weight and heart rhythm was higher in the aged cohorts. The spatial extent was also more variable in the aged cohorts but this could be explained by lower SNR. For the activation time and the maximum amplitude of the response, the variability was similar between age groups. The amplitude of every hemodynamic component decreased as a function of distance from the activation foci. figure 5.2D, shows the amplitude for the HbO response as a function of distance to activation foci. A positive response was also visible in the ipsilateral cortex although smaller in amplitude. figure 5.4B also show changes in cardiac rhythm and blood pressure during stimulations to assess whether this was due to systemic changes. No correlation was found between stimulation and cardiac rhythm or blood pressure (see average over trials in figure 5.4B below) indicating that the cerebral hemodynamic changes were likely initiated locally.

5.6.2 Amplitude of the cerebral hemodynamic response as a function of age

In the contralateral region, the amplitude of the hemodynamic response (defined in figure 5.3C) was shown to decrease with age (Figure 5.3A, 5.3B). This difference was larger in the HbO component (from 9% to 3.9% between Y to VO in the 10 s stimulation), but was also observed for HbR, CBF and HbT signals. The stepwise decrease in amplitude was greater between the young and old rats than between old and very old ($P < 0.05$). The age effect was greater when longer stimulations (10 s) were used as they elicited more activity (figure 5.3B) therefore minimizing the effect of physiological noise. No significant change in CMRO₂ as a function of age was observed. In CMRO₂ estimates, modifying the range of γ_r and γ_t between 0.5–1.5 (data not shown), did not substantially change the spatial extent or the changes of amplitude with age. Smaller values of γ_r and γ_t seem to generate more discriminated CMRO₂ results with age but no statistical differences were observed.

5.6.3 Activation time

In order to measure vessel reactivity in a specific region of interest, we defined the activation time as the time required for the signal to reach 50% of the maximum response (see figure 5.3C for definition). We observed an increase in HbO and HbR activation time with age (figure 5.3D, E). The difference was larger between the young and old rats than between old and very old rats. The difference was statistically significant when compared with young rats. A further increase in activation time between the old and very old rats was observed that was not statistically significant for the 1s stimulation but was significant for

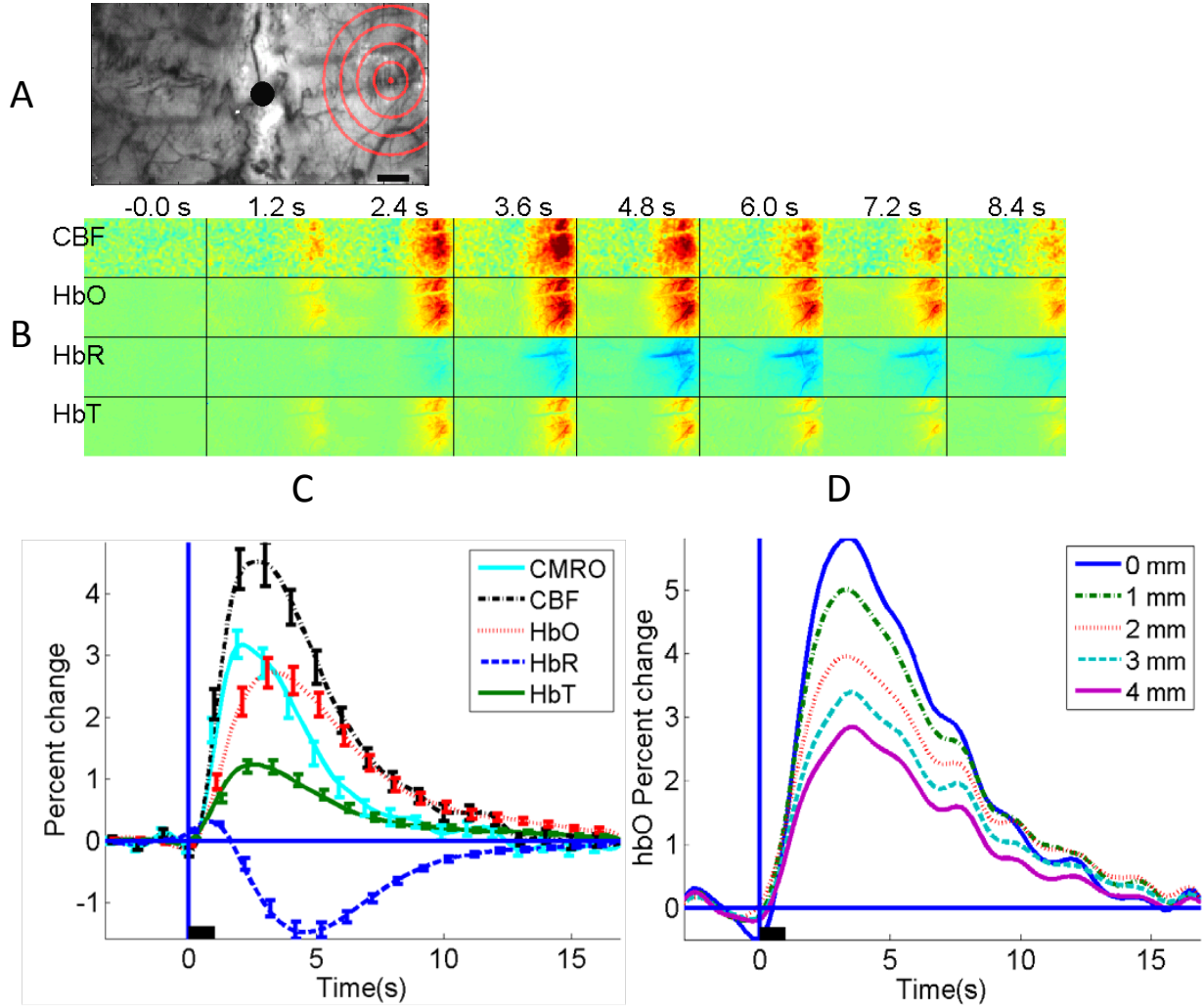


Figure 5.2: A) Anatomical image recorded with illumination at 525 nm. Black dot correspond to Bregma, bar: 1 mm. Red concentric circles refer to response data shown in D. B) Cerebral blood flow (CBF, speckle contrast), HbO, HbR and HbT images after a forepaw stimulus (1s duration, $t=0$ s correspond to the onset of stimulation). The color scale is expressed as percentage signal change relative to prestimulus baseline ($\Delta R/R_0$, or $\Delta C/C_0$ for flow). Time (in seconds) relative to stimulus onset is indicated above the images. Forty trials were averaged. We assumed baseline concentrations of 60 and 40 μ M for HbO and HbR, respectively. C) Typical temporal profiles of blood flow, HbO, HbR, and HbT changes (% of baseline) for the region of activation in response to 1 s forepaw stimulus ($t=0$ s indicates stimulation onset). Data were expressed as means \pm SEM of 29 rats. D) HbO response at different distances from the center of activation in a single animal (circles shown in A). The black bar represents the stimulation period.

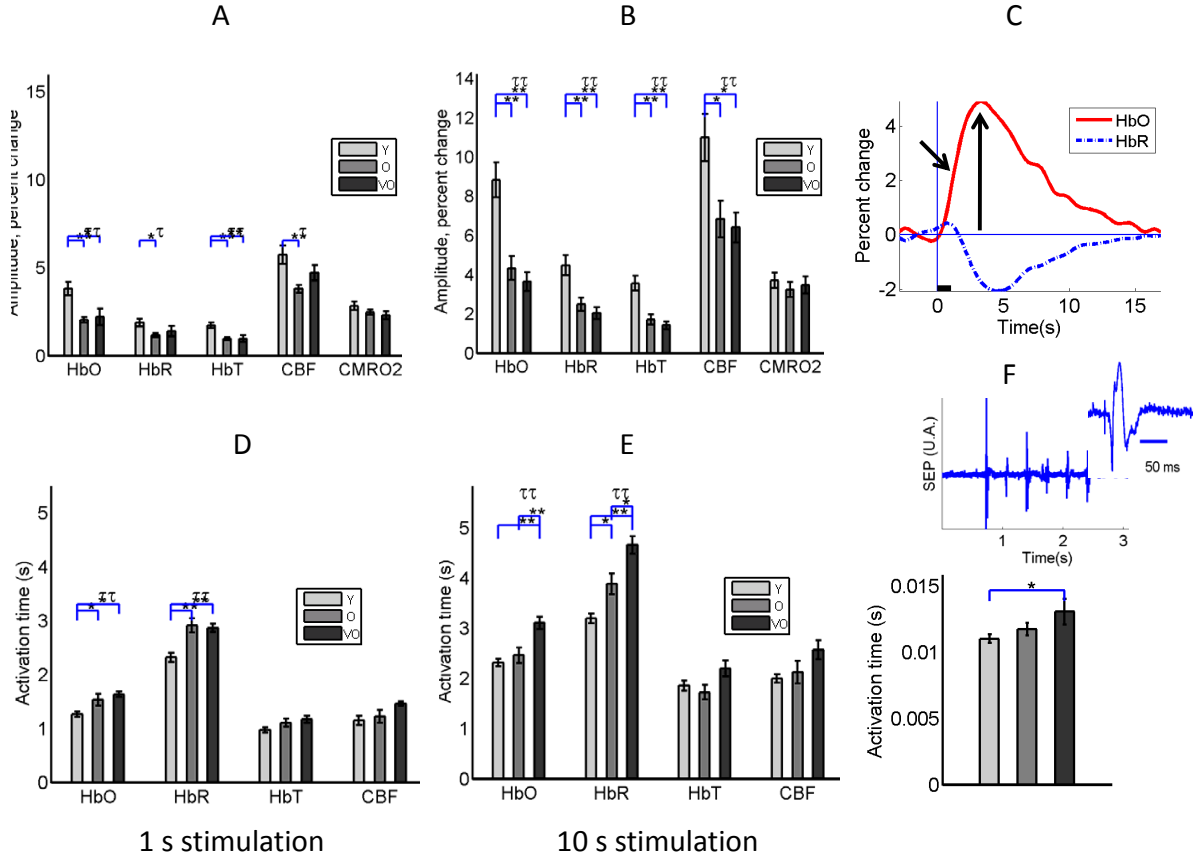


Figure 5.3: A-B) Maximum amplitude change in the region of activation following forepaw stimulation. 1s 3Hz 0.3 ms pulses and 10s 3Hz 0.3 ms pulses respectively. C) Definition of amplitude and activation time (arrows) in a typical signal. D-E) Time to reach half of the maximum response following forepaw stimulation. 1s 3Hz 0.3 ms and 10s 3Hz 0.3 ms pulses respectively. F) Typical SEP recorded during 2 second stimulation at 3 Hz. Inset, zoom showing the electrical stimuli artifact and the SEP response. Bottom: Activation time of the SEP response as a function of age Anova: τ : $P < 0.05$ $\tau\tau$: $P < 0.01$. Group comparison (Tukey-Kramer HSD) *: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Data were expressed as means \pm SEM

the 10s stimulation (figure 5.3E). The activation time was not as clearly affected by aging in the CBF signals. The higher variability of the speckle imaging technique may explain this difference.

Activation delay in SEP was also measured and decreased with ageing (figure 5.3F) and clearly did not account for the hemodynamic observations since the maximum change across groups was less than 3 ms.

One-way ANOVAs confirmed a relation between a) age and amplitude (figure 5.3A, 5.3B) b) age and activation time (figure 5.3D, 3E). To investigate potential interactions, two-way ANOVAs were also performed on activation time with two discriminating factors (age: three groups and amplitude: two groups). Age was shown to be a significant factor while amplitude was not. No interaction between both factors emerged from the analysis. Finally the intra-group variability was observed to be larger for HbR. While the half time to peak response in HbO did not show intra-group variability, the return to baseline was observed to have a large variance (standard deviation=2.5 s).

5.6.4 Impact of sex and weight

Sex has been documented to impact body weight, protein consumption, muscle mass and general activity in this animal model as a function of age (Alliot et al., 2002). To evaluate whether the cerebral hemodynamic response varied with sex, we performed a mixed two-factor ANOVA to evaluate the combined effects of age (three levels) and sex (two levels). Results showed no effect of sex and no interaction between sex and age except for an interaction measured for the amplitude of HbR.

Since weight increase with age and that anesthesia can be affected by body weight, a one-way ANOVA for weight was performed and no difference could be attributed to weight. A two-way ANOVA was also performed with weight (3 groups) and age (3 groups) and only age was seen to affect the response amplitude and activation time while weight had no effect.

Table 2: P-values for mixed two-way ANOVAs accounting for the two pairs age -sex and age-weight. Bold values are significant $p < 0.05$.

5.6.5 Ipsi/Contralateral response

The cerebral hemodynamic response in the ipsilateral region was compared with that of the contralateral region as a function of age. No significant differences were observed in the shape of the response between the two regions or the delay of activation (figure 5.4A). In the contralateral region, the amplitude of the response to stimuli decreased with aging ($P < 0.001$). In the ipsilateral region, no statistically significant change of amplitude was observed between

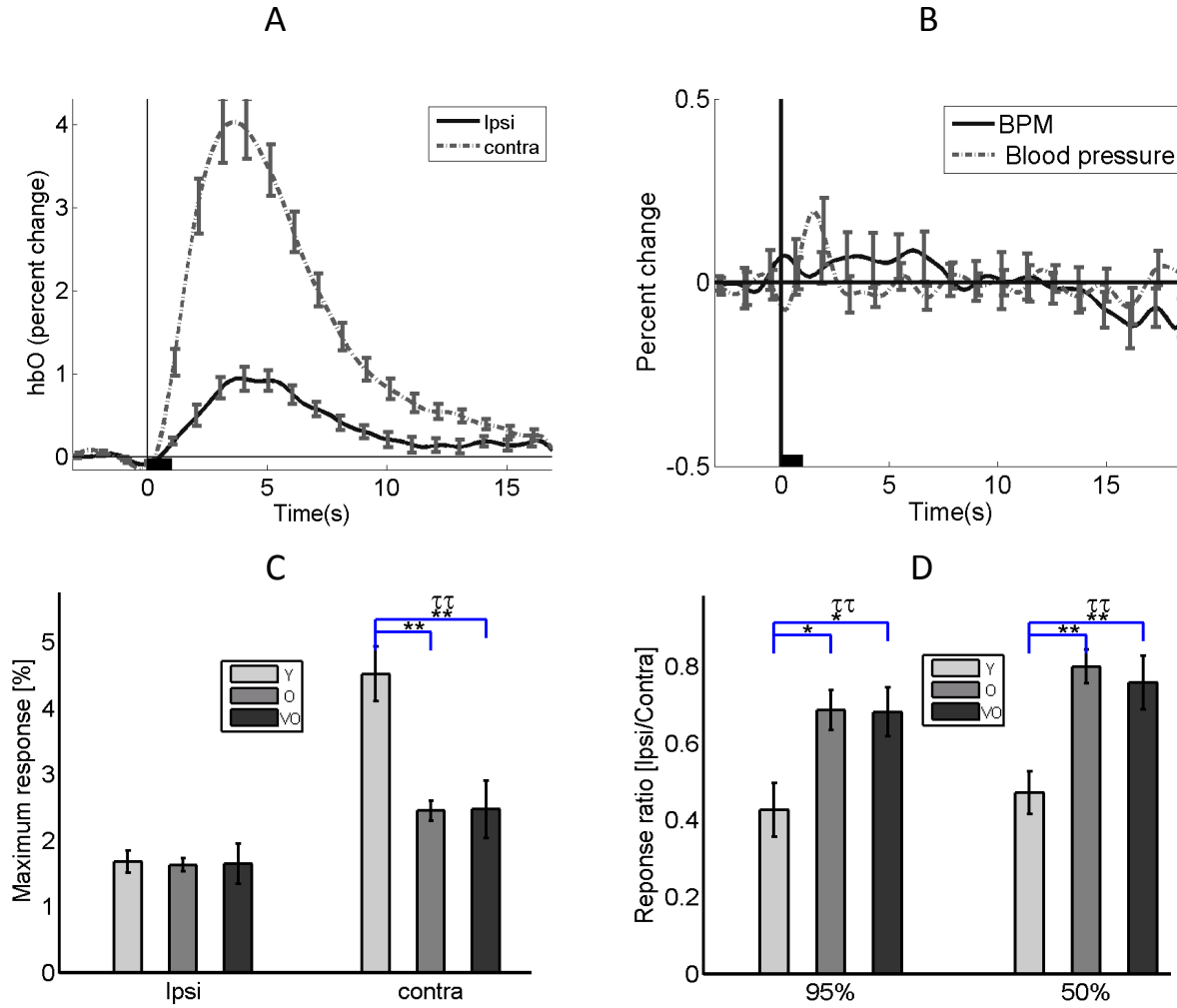


Figure 5.4: A) HBO response following 1s stimulation (Error bars represent standard error of the mean across animals $n=29$). Left: ipsi and contralateral responses at sites of maximal activation. B): Changes in cardiac rhythm (averaged over stimulations) showing changes less than 0.15% in cardiac rhythm, i.e. not discernible, following forepaw stimulation. Data were expressed as means \pm SEM of 29 rats C): Maximal amplitude of the HBO response (percent change) following forepaw stimulation in both ipsi and contralateral regions (1s stimulation 3 Hz, 0.3 ms). D): HbO response ratio Ipsi/Contra for the region having the maximum amplitude on each side and for a region having the median response on each side of the brain. ANOVA: τ : $P < 0.05$ $\tau\tau$: $P < 0.01$. Group comparison (Tukey-Kramer HSD) *: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Data were expressed as means \pm SEM

Table 5.2: P-values for mixed two-way ANOVAs accounting for age and sex. Bold values are significant. Data were expressed as means \pm SD

	Age	Sex	Age * Sex	Age	Weight	Age * weight
HbO amplitude	<0.001	0.816	0.288	0.004	0.86	0.900
HbR amplitude	0.001	0.392	0.017	0.013	0.369	0.389
HbT amplitude	<0.001	0.984	0.469	0.004	0.954	0.935
CBF amplitude	0.022	0.870	0.595	0.136	0.742	0.804
HbO activation time	<0.001	0.246	0.973	0.005	0.687	0.473
HbR activation time	0.003	0.777	0.346	0.001	0.957	0.580
HbT activation time	0.014	0.177	0.928	0.062	0.837	0.384
CBF activation time	0.072	0.509	0.323	0.113	0.765	0.439

age groups (figure 5.4C for HbO). However, in all groups and for all hemodynamic components, the ipsilateral response remained smaller in amplitude than the contralateral response. To investigate whether the response to activation was more lateralized at a young age, amplitude ratios between ipsilateral and contralateral regions were computed. figure 5.4D shows the results of this ratio for HbO in all age groups. For each hemodynamic component (HbO, HbR, CBF, HbT) the ratio was computed by generating a probability distribution function (PDF) around the maximal value in each hemisphere and choosing points at 95% of the maximum. This measure was adequate for the group statistics as it removed the necessity to define individual ROIs. Results (figure 5.4D) showed that the ratio was higher in O and VO rats compared to Y. To validate whether this was due to a hemodynamic response that became less localized with age, the same ratio were computed but instead of taking the region of maximum amplitude (95% of the maximum of the PDF), it was measured in the region representing the median amplitude change (50% of the maximum of the PDF). The results were similar: the median amplitude decreased faster with age in the contralateral region than in the ipsilateral region (figure 5.4D). A statistically significant change in the ratio was observed between young and aged (O and VO) that became more significant when using the 50% measure (figure 5.4D). While the presence of a response in the ipsilateral region could have indicated the presence of a systemic response, we measured the blood pressure and heart rhythm (figure 5.4B) and did not see any correlation between theses parameters and the stimulation paradigm. Electrophysiological recordings were also performed in the contralateral region in most of the rats (N=23, data not shown) confirming the localization of the response. In one rat, the electrode was positioned in the ipsilateral region and a small-evoked neuronal activity was measured correlating with measures of the hemodynamic response in the ipsilateral region.

The results presented for HbO in figure 5.4 extend to other hemodynamic components

and to the type of stimuli (data not shown). In all cases, the maximum amplitude of the response decreased faster with age in the contralateral region than in the ipsilateral region.

5.6.6 Spatial extent and aging

The spatial extent of the hemodynamic responses was analyzed for all stimulations (1, 2 and 10s) in the contralateral hemisphere. It was defined as the area exhibiting a response of 50% of the maximum value for each hemodynamic component.

Within an age group, the spatial extent exhibited a large variability. This variability was not correlated to any measured physiological parameter but a correlation was present between the spatial extents of all hemodynamic parameters (a large HbO spatial extent resulted in a large HbR spatial extent). With aging, HbO and HbT spatial extents displayed a significant increase between Y and VO (figure 5.5A, 5B) with the response measured to be less localized in older animals. This observation was confirmed for all type of stimulations used. For HbR and CBF, the results did not show any significant changes.

5.6.7 Hemodynamic ratios and Grubb's exponent

Hemodynamic changes were quantified in terms of amplitude, spatial extent and timing but the access provided by multi-spectral optical imaging to all components of the response enabled to build ratios that inform on the neurovascular coupling locally. Ratios of the various measures performed here were computed at the maximal amplitude (figure 5.5C, 5.5D) and for distinct stimulations. The Grubb exponent was computed at the end of the 10 s stimulation (figure 5.5E) to be able to compare with separate steady-state measures from the literature (Grubb et al., 1974; Jones et al., 2001; Leung et al., 2009). The flow-CMRO₂ ratio (called “n” in Leontiev and Buxton (2007)) was also computed.

While the amplitude of all hemodynamic parameters was observed to decrease with aging (figure 5.3A, 5.3B), this diminution was not uniform across hemodynamic components i.e. HbO, HbT and CBF amplitudes decreased similarly with aging while the HbR component did not decrease proportionally (figure 5.5C, 5.5D). This observation is also reflected in the CMRO₂ computations which show no significant change with age (figure 5.3A, 5.3B). Stimulus duration had an impact as the ratios HbT/HbR and HbO/HbR display different behavior with age for the 1s and 10s stimulations. Finally, the Grubb ratio had a statistically significant decrease with age.

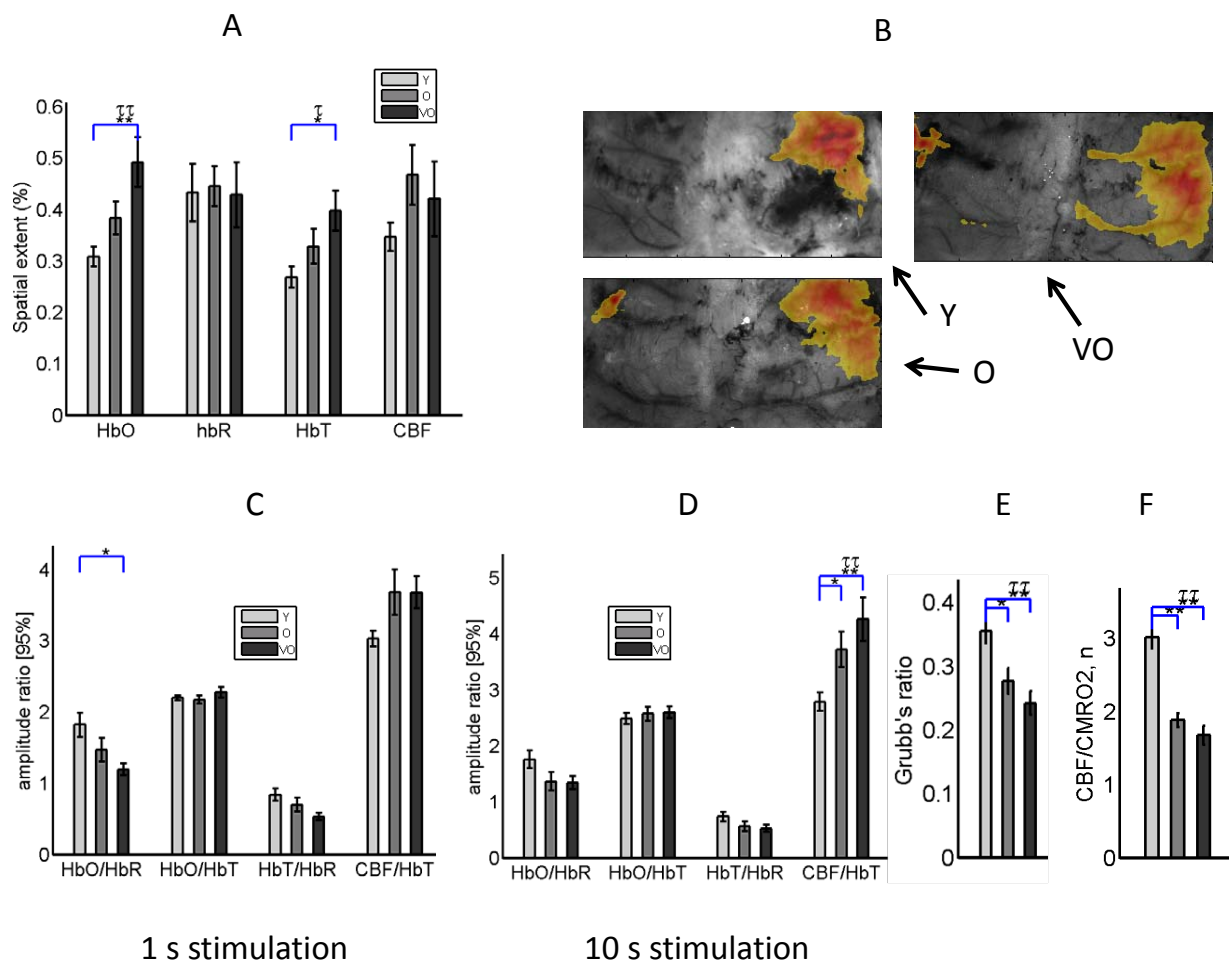


Figure 5.5: A) Calculated spatial extent (in percent of the recorded contralateral region) of each hemodynamic parameter. B) Representative data of the spatial extent for HbO in three age groups. C-D) Hemodynamic parameters response amplitude ratio for the region of activation: 1s 3Hz 0.3 ms and 10s 3Hz 0.3 ms. E-F) Grubb's exponent and n (CBF/CMRO₂ ratio) as a function of aging evaluated in steady state (stim: 10s 3Hz 0.3 ms). . Statistic: Anova: τ : $P < 0.05$ $\tau\tau$: $P < 0.01$. Group comparison (Tukey-Kramer HSD) *: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Data were expressed as means \pm SEM

5.7 Discussion

No study has yet explored cerebrovascular hemodynamic changes in the aging LOU/c. The main goal was therefore to quantify potential vascular changes, if any, as a function of age in this model of healthy aging. Hemodynamic parameters were measured in the somatosensory cortex during forepaw stimulation using multispectral intrinsic optical imaging. Microvascular morphologic changes are known to be associated with normal aging (Riddle et al., 2003; Moody et al., 1997) such as thinning of endothelium and thickening of basement membrane. Changes in capillary density, diameter, tortuosity, surface area, and volume fraction, were reported, though not entirely consistent (Kalaria, 1996). Windkessel dysfunction (Henry-Feugeas et al., 2008) and loss of pulsatility and distensibility (Stoquart-ElSankari et al., 2007) have also been reported. Hajdu et al. (1990) studied the stress-strain relation and elastic modulus of pial arterioles in rats and found age-related reduced cross-section and distensibility, caused by losses of elastic components in vessel wall (smooth muscle and elastin). The relation between these vascular changes and impairments associated with age has not been investigated thoroughly and a cause-effect relation remains elusive.

Our results show reduced amplitude in all components of the hemodynamic response to forepaw stimulation. Previous studies have shown that Lou/c rats represent a model of healthy aging with cognition and synaptic plasticity (Kollen et al., 2010), metabolic and neuroendocrine functions (Perrin et al., 2003; Alliot et al., 2002; Kappeler et al., 2004; Veyrat-Durebex et al., 2005) and memory capacity being preserved with age, at least up to 24 months. Here, vascular changes were observed at 24 months with smaller incremental changes as the animals aged beyond 24 months. Two factors may account for these results: first it is known that baseline blood flow is a major determinant of the hemodynamic response amplitude. Since baseline flow is expected to decrease with age, the evoked responses amplitude reduction may be partially due to systemic effects associated with baseline physiology. Second, as mentioned above, it is observed that age reduces the vascular density in the brain. Age related brain atrophy, associated cortical thinning and decreases in cerebral blood volumes may also contribute to the reduced amplitude of the response observed both on the HbT and CBF component.

The optical measures performed in this work confirmed a decrease of the hemodynamic response amplitude and increase in spatial extent observed in humans with age (Solbakk et al., 2008). While these observations agreed at the site to which the forepaw activation projected, this decrease in amplitude with age was not observed ipsilateral to stimulation. This was the most surprising observation of this work. No systemic cause for this ipsilateral activity could be found in our data. One hypothesis explaining this observation is that

cortico-cortical or cortico-thalamus-cortical connections are preserved with age while the somatosensory pathway deteriorates. However CMRO_2 estimations, a measure that is believed to be closer to neuronal activity, reveal no significant change with age when compared to other hemodynamic parameters. This would suggest that neuronal activity is preserved even in the contralateral cortex where hemodynamic measures vary. Thus a second hypothesis could be that neuronal activation is preserved but that the local neurovascular coupling is modified, or that local vessel density, and associated perfusion changes are diminished when strong local activation occurs. Amplitude changes with age were more apparent with longer stimulations supporting the latter hypothesis as these stimuli elicited larger hemodynamic changes.

Changes in the hemodynamic delay were consistently observed that may either reflect a change in the vessel tortuosity or a change in the neurovascular coupling through neurotransmitters associated with vessel dilatation. Both effects might be intertwined since diffusion of vasodilators in neuronal tissue may have a different dynamics when capillary density is decreased. Other factors that may affect this delay are changes in physical properties of the arterioles such as the elastin content. The observed temporal changes could not be explained by electrophysiological measures, even if these measures also saw increased latency with age.

The increase in spatial extent occurred concurrently with a decrease of the amplitude of the response, so it is difficult to determine which comes first. The HbR response displayed a spatial extent that did not change significantly with aging. For HbO and HbT, the increased spatial extent with age may either originate in a wider neuronal recruitment or changes in the topology of the vascular bed or its distensibility. The close relationship between HbR and neuronal activation seem to favor a change in the vascular component.

Hemodynamic ratios were computed to see if reduced amplitudes were similar along all components. HbO and HbR were observed to have different amplitude changes with aging. To investigate the origin of this change, CMRO_2 changes were estimated from the multi-spectral data and were not shown to vary with age. This result is consistent with calibrated fMRI in humans showing no differences in CMRO_2 changes with aging (Ances et al., 2009). Baseline CMRO_2 was not measured and many PET studies have shown a decrease in baseline CMRO_2 with aging (Takada et al., 1992; Ishii et al., 1996; Burns and Tyrrell, 1992; Leenders et al., 1990) though these findings remain controversial (Bentourkia et al., 2000; Tumeh et al., 2007). Since CMRO_2 is expected to be closer to neuronal activity, our results suggest that the changes observed are mainly due to vascular effects. To further confirm, Grubb's ratio was evaluated. The values obtained were consistent with the literature (Grubb et al., 1974; Jones et al., 2001; Leung et al., 2009). The increasing ratio CBF/HbT with age may indicate that vessel become less compliant though the direct relation between Grubb's exponent

and microscopic vessel compliance has to be understood in the context of phenomenological biophysical models and investigated further. To our knowledge, this is the first measure of this exponent as a function of age. In view of these results, one should remain cautious in the interpretation of human BOLD data in the context of aging when calibration is not performed.

The afferent pathway of the response measured here is composed of somatic group ii, iii and iv afferent nerves and the efferent nerve pathway includes the pelvic parasympathetic cholinergic vasodilator nerves. The sensitivity of these systems may be affected by age (David-Jurgens et al., 2008; Godde et al., 2002) and thus play a role in the observed optical signal decrease and spatial extent increase with age. In David-Jurgens et al. (2008), changes were observed to be distinct between forepaw and hindpaw stimulations providing evidence against a neural degeneration process on a global scale. Our CMRO₂ estimates may support this conclusion however more work is needed to investigate the role of neural degeneration on the hemodynamic response.

The interpretation in this work is subject to confound that may also contribute to the changes observed. It is known that the size of the brain changes with aging and previous work has shown that diffusion of light by brain tissue increases with age. This increase may contribute to changes in the diffusion path length factor as a function of age. This would reflect itself in the amplitude changes and were not accounted for in this study. The effect of anesthetic (α -chloralose) may be different depending on age and weight. We did control the physiological parameters (expired CO₂, heart rate, blood pressure and ventilation parameters) and adjusted the anesthesia level to obtain the same physiological parameters for all rats. We measured the weight before the experiment and the quantity of α -chloralose was adjusted using a linear relationship. Between 5 and 24 months, the weight difference was 6% for the female group and 30% for the male group. Elsewhere, Perrin measured a similar increase of 30% for LOU/c rats compared to 47% for Wistar rats (Perrin et al., 2003). This smaller increase in weight with age was expected to make our data less sensitive to changes in anesthesia which was supported by ANOVAs including weight as a factor.

The CMRO₂ response was calculated from the measured changes in CBF, HbR, and HbT by assuming values for the vascular weighting constants, γ_r and γ_t , as well as the baseline concentrations of HbO and HbR. These estimations are thus dependent on these assumed parameters and they were varied to see how they affect the response and its spatial extent. As in Dunn et al. (2005), we observed that the calculated spatial extent of CMRO₂ change by only a few percent over the range of $\gamma = 0.5$ – 1.5 , which spans the expected physiologic range for γ_r and γ_t (Jones et al., 2001), suggesting that the vascular weighting constants do not substantially influence the spatial extent of the calculated CMRO₂ response. We also

calculated the maximum CMRO₂ amplitude change in the region of activation for γ_r and γ_t ranging from 0.5 to 1.5. Small values of γ_r and γ_t seem to generate more discriminated CMRO₂ results with age, but these changes did not produce significant differences.

5.8 Conclusion

In this paper, we investigated hemodynamic changes occurring with age in the LOU/c rats. Our results show that hemodynamic changes are already measurable at 24 months in this rat strain. Using forepaw stimulations, responses amplitude of most hemodynamic parameters were shown to decrease while the timing of the responses increased. Moreover, in this specific configuration, increased laterality of the response with age was due to a decrease of the contralateral response while the ipsilateral response was left unchanged. Changes in individual hemodynamic components were such that CMRO₂ estimations did not show any significant changes while the Grubb exponent did change with aging. In this model of healthy aging, these results are hypothesized to be due to vascular changes (both in terms of anatomical density and function, e.g. compliance). However, histological and neurochemical studies will be needed both at the levels of nerve afferences and somatosensory cortex to examine whether or not neural degenerative processes are participating to the hemodynamic changes observed in 24-month-old animals.

5.9 Acknowledgements

We thank the Quebec Network for Research on Aging, a thematic network supported by the Fonds de la recherche en santé du Québec, for providing us with the LOU rat used in the present study. S Dubeau was partly supported by a RQRV pilot grant to GF, FL, EB and PG. FL was supported by a NSERC Discovery grant.

Bibliography

- Aizenstein, H. J., Clark, K. A., Butters, M. A., Cochran, J., Stenger, V. A., Meltzer, C. C., Reynolds, C. F., Carter, C. S., 2004. The bold hemodynamic response in healthy aging. *Journal of Cognitive Neuroscience* 16 (5), 786–793.
- Alliot, J., Boghossian, S., Jourdan, D., Veyrat-Durebex, C., Pickering, G., Meynial-Denis, D., Gaumet, N., 2002. The lou/c/jall rat as an animal model of healthy aging? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57 (8), B312–20.
- Ances, B. M., Greenberg, J. H., Detre, J. A., 2001. The effects of graded hypercapnia on the activation flow coupling response due to forepaw stimulation in alpha-chloralose anesthetized rats. *Brain Res* 911 (1), 82–8.
- Ances, B. M., Liang, C. L., Leontiev, O., Perthen, J. E., Fleisher, A. S., Lansing, A. E., Buxton, R. B., 2009. Effects of aging on cerebral blood flow, oxygen metabolism, and blood oxygenation level dependent responses to visual stimulation. *Hum Brain Mapp* 30 (4), 1120–32.
- Bentourkia, M., Bol, A., Ivanoiu, A., Labar, D., Sibomana, M., Coppens, A., Michel, C., Cosnard, G., De Volder, A. G., 2000. Comparison of regional cerebral blood flow and glucose metabolism in the normal brain: effect of aging. *Journal of the Neurological Sciences* 181 (1–2), 19–28.
- Briers, J. D., 2001. Laser doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas* 22 (4), R35–66.
- Briers, J. D., Richards, G., He, X. W., 1999. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (lasca). *Journal of Biomedical Optics* 4 (1), 164–164.
- Buckner, R. L., Snyder, A. Z., Sanders, A. L., Raichle, M. E., Morris, J. C., 2000. Functional brain imaging of young, nondemented, and demented older adults. *Journal of Cognitive Neuroscience* 12 Suppl 2, 24–34.
- Burns, A., Tyrrell, P., 1992. Association of age with regional cerebral oxygen utilization: a positron emission tomography study. *Age and Ageing* 21 (5), 316–320.
- Buxton, R. B., Wong, E. C., Frank, L. R., 1998. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn Reson Med* 39 (6), 855–64.
- Cabeza, R., 2002. Hemispheric asymmetry reduction in older adults: the harold model. *Psychology and Aging* 17 (1), 85–100.
- Culver, J. P., Durduran, T., Furuya, D., Cheung, C., Greenberg, J. H., Yodh, A. G., 2003. Diffuse optical tomography of cerebral blood flow, oxygenation, and metabolism in rat during focal ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 23 (8), 911–924.

- David-Jurgens, M., Churs, L., Berkefeld, T., Zepka, R. F., Dinse, H. R., 2008. Differential effects of aging on fore- and hindpaw maps of rat somatosensory cortex. *PloS One* 3 (10), e3399–e3399.
- D’Esposito, M., Deouell, L. Y., Gazzaley, A., 2003. Alterations in the bold fmri signal with ageing and disease: a challenge for neuroimaging. *Nat Rev Neurosci* 4 (11), 863–72.
- Devor, A., Dunn, A. K., Andermann, M. L., Ulbert, I., Boas, D. A., Dale, A. M., 2003. Coupling of total hemoglobin concentration, oxygenation, and neural activity in rat somatosensory cortex. *Neuron* 39 (2), 353–9.
- Dickstein, D. L., Walsh, J., Brautigam, H., Stockton, S. D., J., Gandy, S., Hof, P. R., 2010. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in alzheimer’s disease. *Mt Sinai J Med* 77 (1), 82–102.
- Driscoll, I., Howard, S., Stone, J., Monfils, M., Tomanek, B., Brooks, W., Sutherland, R., 2006. The aging hippocampus: A multi-level analysis in the rat. *Neuroscience* 139 (4), 1173–1185.
- Duncan, D. D., Kirkpatrick, S. J., 2008. Can laser speckle flowmetry be made a quantitative tool? *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 25 (8), 2088–94.
- Dunn, A. K., Bolay, H., Moskowitz, M. A., Boas, D. A., 2001. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab* 21 (3), 195–201.
- Dunn, A. K., Devor, A., Bolay, H., Andermann, M. L., Moskowitz, M. A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2003. Simultaneous imaging of total cerebral hemoglobin concentration, oxygenation, and blood flow during functional activation. *Opt Lett* 28 (1), 28–30.
- Dunn, A. K., Devor, A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2005. Spatial extent of oxygen metabolism and hemodynamic changes during functional activation of the rat somatosensory cortex. *Neuroimage* 27 (2), 279–90.
- Duque, G., Rivas, D., Li, W., Li, A., Henderson, J. E., Ferland, G., Gaudreau, P., 2009. Age-related bone loss in the lou/c rat model of healthy ageing. *Exp Gerontol* 44 (3), 183–9.
- Durduran, T., Yu, G., Burnett, M. G., Detre, J. A., Greenberg, J. H., Wang, J., Zhou, C., Yodh, A. G., 2004. Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation. *Optics Letters* 29 (15), 1766–1768.
- Eppinger, B., Kray, J., Mecklinger, A., John, O., 2007. Age differences in task switching and response monitoring: evidence from erps. *Biological Psychology* 75 (1), 52–67.
- Erkinjuntti, T., Gauthier, S., 2009. The concept of vascular cognitive impairment. *Frontiers of Neurology and Neuroscience* 24, 79–85.

- Fladby, T., Bryhn, G., Halvorsen, O., Rose, I., Wahlund, M., Wiig, P., Wetterberg, L., 2004. Olfactory response in the temporal cortex of the elderly measured with near-infrared spectroscopy: a preliminary feasibility study. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 24 (6), 677–680.
- Godde, B., Berkefeld, T., David-Jurgens, M., Dinse, H. R., 2002. Age-related changes in primary somatosensory cortex of rats: evidence for parallel degenerative and plastic-adaptive processes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 26 (7), 743–752.
- Grubb, R. L., J., Raichle, M. E., Eichling, J. O., Ter-Pogossian, M. M., 1974. The effects of changes in paco₂ on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time. *Stroke* 5 (5), 630–9.
- Hajdu, M. A., Heistad, D. D., Siems, J. E., Baumbach, G. L., 1990. Effects of aging on mechanics and composition of cerebral arterioles in rats. *Circulation Research* 66 (6), 1747–1754.
- Handwerker, D. A., Gazzaley, A., Inglis, B. A., D’Esposito, M., 2007. Reducing vascular variability of fmri data across aging populations using a breathholding task. *Human Brain Mapping* 28 (9), 846–859.
- Henry-Feugeas, M. C., Onen, F., Claeys, E. S., 2008. Classifying late-onset dementia with mri: is arteriosclerotic brain degeneration the most common cause of alzheimer’s syndrome? *Clinical Interventions in Aging* 3 (1), 187–199.
- Heo, S., Prakash, R. S., Voss, M. W., Erickson, K. I., Ouyang, C., Sutton, B. P., Kramer, A. F., 2010. Resting hippocampal blood flow, spatial memory and aging. *Brain Research* 1315, 119–127.
- Herrmann, M. J., Walter, A., Ehli, A. C., Fallgatter, A. J., 2006. Cerebral oxygenation changes in the prefrontal cortex: effects of age and gender. *Neurobiology of Aging* 27 (6), 888–894.
- Hoge, R. D., Franceschini, M. A., Covolan, R. J. M., Huppert, T., Mandeville, J. B., Boas, D. A., 2005. Simultaneous recording of task-induced changes in blood oxygenation, volume, and flow using diffuse optical imaging and arterial spin-labeling mri. *NeuroImage* 25 (3), 701–707.
- Huettel, S. A., Singerman, J. D., McCarthy, G., 2001. The effects of aging upon the hemodynamic response measured by functional mri. *NeuroImage* 13 (1), 161–175.
- Huppert, T. J., Allen, M. S., Benav, H., Jones, P. B., Boas, D. A., 2007. A multicompartiment vascular model for inferring baseline and functional changes in cerebral oxygen metabolism and arterial dilation. *J Cereb Blood Flow Metab* 27 (6), 1262–79.

- Hyder, F., Shulman, R. G., Rothman, D. L., 1998. A model for the regulation of cerebral oxygen delivery. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985) 85 (2), 554–564.
- Iadecola, C., 2010. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathologica* 120 (3), 287–296.
- Iadecola, C., Park, L., Capone, C., 2009. Threats to the mind: Aging, amyloid, and hypertension. *Stroke* 40 (3, Supplement 1), S40–S44.
- Ishii, K., Kitagaki, H., Kono, M., Mori, E., 1996. Decreased medial temporal oxygen metabolism in alzheimer's disease shown by pet. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine* 37 (7), 1159–1165.
- Jones, M., Berwick, J., Johnston, D., Mayhew, J., 2001. Concurrent optical imaging spectroscopy and laser-doppler flowmetry: the relationship between blood flow, oxygenation, and volume in rodent barrel cortex. *Neuroimage* 13 (6 Pt 1), 1002–15.
- Julien, C., 2006. The enigma of mayer waves: Facts and models. *Cardiovascular Research* 70 (1), 12–21.
- Kalaria, R. N., 1996. Cerebral vessels in ageing and alzheimer's disease. *Pharmacology and Therapeutics* 72 (3), 193–214.
- Kappeler, L., Zizzari, P., Alliot, J., Epelbaum, J., Bluët-Pajot, M.-T., 2004. Delayed age-associated decrease in growth hormone pulsatile secretion and increased orexigenic peptide expression in the *lou c/jall* rat. *Neuroendocrinology* 80 (5), 273–283.
- Kida, I., Kennan, R. P., Rothman, D. L., Behar, K. L., Hyder, F., 2000. High-resolution $\text{cmr}(\text{o}2)$ mapping in rat cortex: a multiparametric approach to calibration of bold image contrast at 7 tesla. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 20 (5), 847–860.
- Kohl, M., Lindauer, U., Royle, G., Kuhl, M., Gold, L., Villringer, A., Dirnagl, U., 2000. Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals. *Phys Med Biol* 45 (12), 3749–64.
- Kollen, M., Stephan, A., Faivre-Bauman, A., Loudes, C., Sinet, P. M., Alliot, J., Billard, J. M., Epelbaum, J., Dutar, P., Jouvenceau, A., 2010. Preserved memory capacities in aged *lou/c/jall* rats. *Neurobiology of Aging* 31 (1), 129–142.
- Kristofikova, Z., Ricny, J., Ort, M., Ripova, D., 2010. Aging and lateralization of the rat brain on a biochemical level. *Neurochemical Research* 35 (8), 1138–1146.
- Kristofikova, Z., Stastny, F., Bubenikova, V., Druga, R., Klaschka, J., Spaniel, F., 2004. Age- and sex-dependent laterality of rat hippocampal cholinergic system in relation to animal models of neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Neurochemical Research* 29 (4), 671–680.

- Langenecker, S. A., Nielson, K. A., Rao, S. M., 2004. fmri of healthy older adults during stroop interference. *NeuroImage* 21 (1), 192–200.
- Leenders, K. L., Perani, D., Lammertsma, A. A., Heather, J. D., Buckingham, P., Healy, M. J., Gibbs, J. M., Wise, R. J., Hatazawa, J., Herold, S., 1990. Cerebral blood flow, blood volume and oxygen utilization. normal values and effect of age. *Brain: A Journal of Neurology* 113 (Pt 1), 27–47.
- Leontiev, O., Buxton, R. B., 2007. Reproducibility of bold, perfusion, and cmro2 measurements with calibrated-bold fmri. *NeuroImage* 35 (1), 175–184.
- Leung, T. S., Tachtsidis, I., Tisdall, M. M., Pritchard, C., Smith, M., Elwell, C. E., 2009. Estimating a modified grubb's exponent in healthy human brains with near infrared spectroscopy and transcranial doppler. *Physiological Measurement* 30 (1), 1–12.
- Li, Z., Moore, A. B., Tyner, C., Hu, X., 2009. Asymmetric connectivity reduction and its relationship to "harold" in aging brain. *Brain Research* 1295, 149–158.
- Lu, H., Golay, X., Pekar, J. J., Van Zijl, P. C. M., 2003. Functional magnetic resonance imaging based on changes in vascular space occupancy. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 50 (2), 263–274.
- Lu, H., Zhao, C., Ge, Y., Lewis-Amezcu, K., 2008. Baseline blood oxygenation modulates response amplitude: Physiologic basis for intersubject variations in functional mri signals. *Magnetic Resonance in Medicine* 60 (2), 364–372.
- Luckl, J., Baker, W., Sun, Z.-H., Durduran, T., Yodh, A. G., Greenberg, J. H., 2010. The biological effect of contralateral forepaw stimulation in rat focal cerebral ischemia: a multispectral optical imaging study. *Frontiers in Neuroenergetics* 2.
- Mayhew, J., Johnston, D., Berwick, J., Jones, M., Coffey, P., Zheng, Y., 2000. Spectroscopic analysis of neural activity in brain: increased oxygen consumption following activation of barrel cortex. *Neuroimage* 12 (6), 664–75.
- Mehagnoul-Schipper, D. J., van der Kallen, B. F. W., Colier, W. N. J. M., van der Sluijs, M. C., van Erning, L. J. T. O., Thijssen, H. O. M., Oeseburg, B., Hoefnagels, W. H. L., Jansen, R. W. M. M., 2002. Simultaneous measurements of cerebral oxygenation changes during brain activation by near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging in healthy young and elderly subjects. *Human Brain Mapping* 16 (1), 14–23.
- Mitschelen, M., Garteiser, P., Carnes, B. A., Farley, J. A., Doblus, S., DeMoe, J. H., Warrington, J. P., Yan, H., Nicolle, M. M., Towner, R., 2009. Basal and hypercapnia-altered cerebrovascular perfusion predict mild cognitive impairment in aging rodents. *Neuroscience* 164 (3), 918–928.

- Moody, D. M., Brown, W. R., Challa, V. R., Ghazi-Birry, H. S., Reboussin, D. M., 1997. Cerebral microvascular alterations in aging, leukoaraiosis, and alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 826, 103–16.
- Mozolic, J. L., 2010. A cognitive training intervention increases resting cerebral blood flow in healthy older adults. *Frontiers in Human Neuroscience* 4.
- Nagai, M., Hoshida, S., Kario, K., 2010. Hypertension and dementia. *American Journal of Hypertension* 23 (2), 116–124.
- Perrin, D., Soulage, C., Pequignot, J. M., Geloën, A., 2003. Resistance to obesity in *lou/c* rats prevents ageing-associated metabolic alterations. *Diabetologia* 46 (11), 1489–96.
- Raemaekers, M., Vink, M., van den Heuvel, M. P., Kahn, R. S., Ramsey, N. F., 2006. Effects of aging on bold fmri during prosaccades and antisaccades. *Journal of Cognitive Neuroscience* 18 (4), 594–603.
- Ramirez-San-Juan, J. C., Ramos-García, R., Guizar-Iturbide, I., Martínez-Niconoff, G., Choi, B., 2008. Impact of velocity distribution assumption on simplified laser speckle imaging equation. *Optics Express* 16 (5), 3197–3203.
- Restom, K., Bangen, K. J., Bondi, M. W., Perthen, J. E., Liu, T. T., 2007. Cerebral blood flow and bold responses to a memory encoding task: a comparison between healthy young and elderly adults. *NeuroImage* 37 (2), 430–439.
- Richter, W., Richter, M., 2003. The shape of the fmri bold response in children and adults changes systematically with age. *NeuroImage* 20 (2), 1122–1131.
- Riddle, D. R., Sonntag, W. E., Lichtenwalner, R. J., 2003. Microvascular plasticity in aging. *Ageing Res Rev* 2 (2), 149–68.
- Sheth, S. A., Nemoto, M., Guiou, M., Walker, M., Pouratian, N., Hageman, N., Toga, A. W., 2004. Columnar specificity of microvascular oxygenation and volume responses: implications for functional brain mapping. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 24 (3), 634–641.
- Solbakk, A., Alpert, G., Furst, A., Hale, L., Oga, T., Chetty, S., Pickard, N., Knight, R., 2008. Altered prefrontal function with aging: Insights into age-associated performance decline. *Brain Research* 1232, 30–47.
- Stoquart-ElSankari, S., Baledent, O., Gondry-Jouet, C., Makki, M., Godefroy, O., Meyer, M.-E., 2007. Aging effects on cerebral blood and cerebrospinal fluid flows. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 27 (9), 1563–1572.

- Takada, H., Nagata, K., Hirata, Y., Satoh, Y., Watahiki, Y., Sugawara, J., Yokoyama, E., Kondoh, Y., Shishido, F., Inugami, A., 1992. Age-related decline of cerebral oxygen metabolism in normal population detected with positron emission tomography. *Neurological Research* 14 (2 Suppl), 128–131.
- Tekes, A., Mohamed, M. A., Browner, N. M., Calhoun, V. D., Yousem, D. M., 2005. Effect of age on visuomotor functional mr imaging. *Academic Radiology* 12 (6), 739–745.
- Tumeh, P. C., Alavi, A., Houseni, M., Greenfield, A., Chryssikos, T., Newberg, A., Torigian, D. A., Moonis, G., 2007. Structural and functional imaging correlates for age-related changes in the brain. *Seminars in Nuclear Medicine* 37 (2), 69–87.
- Veyrat-Durebex, C., Alliot, J., Gaudreau, P., 2005. Regulation of the pituitary growth hormone-releasing hormone receptor in ageing male and female lou rats: new insights into healthy ageing. *Journal of Neuroendocrinology* 17 (11), 691–700.
- Zysset, S., Schroeter, M. L., Neumann, J., Yves von Cramon, D., 2006. Stroop interference, hemodynamic response and aging: An event-related fmri study. *Neurobiology of Aging*.

CHAPITRE 6

Estimation des paramètres neurovasculaires à l'aide de modèles biophysiques dans un modèle réussi du vieillissement chez le rat

6.1 Description de l'article

Cet article a été soumis à Neuroimage en mars 2011 et a été publié en août 2011. Cet article traite principalement de l'utilisation de modèles biomécaniques pour extraire des paramètres physiologiques de la réponse hémodynamique pour comparer ensuite ces valeurs entre des populations d'âges différents. L'approche consiste à utiliser trois modèles biomécaniques différents pour reproduire les courbes de réponses hémodynamiques obtenues expérimentalement sur une population de rat LOU à trois stades de vieillissement. L'utilisation de trois modèles de complexité différente nous permet de déterminer si un modèle permet de mieux modéliser les réponses hémodynamiques et permet d'extraire les paramètres physiologiques avec une bonne précision. Une première partie effectue des simulations de plusieurs courbes de réponses hémodynamiques et étudie l'identifiabilité des différents paramètres pour des niveaux de bruits différents. La seconde partie utilise les modèles biomécaniques pour extraire les différents paramètres physiologiques à partir de la réponse hémodynamique.

Les résultats montrent que les trois modèles biomécaniques permettent tous de bien modéliser la réponse hémodynamique et que les trois modèles sont de performance égale (du point de vue de l'erreur quadratique moyenne et de la log évidence). Il est montré que dans les trois modèles, l'estimabilité des paramètres est grandement affectée par le niveau de bruit des mesures. À travers les résultats des simulations, l'article peut donc aider à déterminer le nombre d'animaux nécessaires pour obtenir des différences significatives dans l'élaboration d'un protocole expérimental. Malgré un niveau de bruit assez élevé dans les expériences, les résultats montrent que les trois modèles donnent des estimés de paramètres physiologiques qui sont assez semblables. Même si les valeurs estimées diffèrent d'un modèle à l'autre, les trois modèles affichent les mêmes tendances au cours du vieillissement. Le modèle de Boas-Huppert, même s'il contient plus de paramètres, permet de retrouver des mesures au repos et les résultats sont en accord avec les changements vasculaires durant le vieillissement. Un intérêt de cette étude est d'utiliser la modélisation pour obtenir des paramètres qui ont une interprétation physiologique claire. Comme ces paramètres suivent les changements attendus au cours du vieillissement, la modélisation pourrait être utilisée pour diagnostiquer l'état vasculaire cérébral chez l'animal et éventuellement chez l'humain.

6.2 Biophysical model estimation of neurovascular parameters in a rat model of healthy aging

S. Dubeau^a, M. Desjardins^a, P. Pouliot^a, E. Beaumont^b, P. Gaudreau^{c,d}, G. Ferland^e, F. Lesage^{a,f}

^a Dept. of Electrical Engineering, École Polytechnique de Montréal, Canada

^b Dept. of Surgery, Université de Montréal, Canada

^c Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) Research Center, Canada

^d Department of Medicine, Université de Montréal, Canada

^e Dept. of Nutrition, Université de Montréal, Canada

^f Research Center, Institut de Cardiologie de Montréal, Canada

Keywords: Aging, LOU/c rat, Biophysical models, Intrinsic optical imaging, Bayesian statistical methods

6.3 Abstract

Neuronal, vascular and metabolic factors result in a deterioration of the cerebral hemodynamic response with age. The interpretation of neuroimaging studies in the context of aging is rendered difficult due to the challenge in untangling the composite effect of these modifications. In this work we integrate multimodal optical imaging in biophysical models to investigate vascular and metabolic changes occurring in aging. Multispectral intrinsic optical imaging of an animal model of healthy aging, the LOU/c rat, is used in combination with somatosensory stimulation to study the modifications of the hemodynamic response with increasing age. Results are fitted with three macroscopic biophysical models to extract parameters, providing a phenomenological description of vascular and metabolic changes. Our results show that 1) biophysical parameters are estimable from multimodal data and 2) parameter estimates in this population change with aging.

6.4 Introduction

Cognitive decline of the elderly severely affects quality of life for millions of people, highlighting the need for a better understanding of the mechanisms of aging in the brain. Various imaging techniques have been developed which allow probing brain activity and its vascular and metabolic correlates in response to stimulus (Devor et al., 2003, 2008; Fox and Raichle, 1986; Vanzetta and Grinvald, 2008). In particular, invasive imaging of animal models provides

a rich source of information by allowing extensive control on the experimental conditions. In a recent study (Dubeau et al., 2011), we reported age-related changes in the hemodynamic response measured in rats by multimodal optical imaging. This work will further explore the nature of these changes and interpret them in the light of biophysical models. Aging is normally associated with various systemic (Wang et al., 2010) and specific vascular changes. In large arteries, possible changes in diameter, smooth muscle vascularisation, elastin and collagen content, wall stiffness and stress, lead to increased flow pulsatility (Hashimoto and Ito, 2009) that could threaten microcirculation particularly in organs which are highly perfused, such as the brain. Microvascular morphologic changes also accompany normal aging (reviewed in Riddle et al. (2003)), such as thinning of endothelium and thickening of basement membrane. Changes in capillary density, diameter, tortuosity, surface area, and volume fraction, were reported, although not entirely consistent (reviewed by Kalaria (1996)). Aging has also been associated with decreased cerebral regional baseline metabolic rate of glucose (CM-Rglc) and oxygen (CMRO₂) measured by positron emission tomography (PET) (Kalaria, 1996), although this finding remains controversial (Bentourkia et al., 2000; Tumeh et al., 2007). In humans, regional baseline cerebral blood flow (CBF₀) was found to decrease with increasing age, although not always in a linear fashion, in studies using magnetic resonance imaging (MRI) (Ances et al., 2009; Asllani et al., 2009; Parkes et al., 2004; Biagi et al., 2007; Restom et al., 2007), single photon emission computed tomography (SPECT) (Slosman et al., 2001) and PET (Bentourkia et al., 2000; Leenders et al., 1990). Age-related brain atrophy through cortical thinning and ventricular enlargement as well as decreases in cerebral blood volume (Zhang et al., 2010; Leenders et al., 1990) have also been reported.

In addition to, or as a consequence of these morphologic and physiological alterations, age-related differences in cerebral responses to various types of stimuli were reported by many functional imaging studies (Aizenstein et al., 2004; Ances et al., 2009; Restom et al., 2007; D'Esposito et al., 2003; Eppinger et al., 2007; Fladby et al., 2004; Herrmann et al., 2006; Langenecker et al., 2004; Mehagnoul-Schipper et al., 2002; Zysset et al., 2006). Also, in reaction to various vasodilator agents, cerebral arteries have shown reduced vasodilator response in aging (Gatto et al., 2007). Such impaired vascular reactivity could affect neuro-vascular coupling and impact hemodynamics-based functional measurements (D'Esposito et al., 2003). Few studies have directly investigated the biomechanical properties of cerebral vessels in aging; but "Windkessel dysfunction" (Henry-Feugeas et al., 2008) and loss of pulsatility and distensibility (Stoquart-ElSankari et al., 2007) have been reported. Hajdu et al. (1990) studied the stress-strain relation and elastic modulus of pial arterioles in rats and found age-related reduced cross-section and distensibility, caused by loss of elastic components in vessel wall (smooth muscle and elastin).

Since many components affecting the hemodynamic response seem to be modified with age, the interpretation of imaging studies of age is difficult (D’Esposito et al., 2003). In most cases, this has limited researchers to descriptive statistics on their data. For untangling the contributions of the different components from measured data, biophysical models describing their interaction might provide a useful tool. In particular, biomechanical models of cerebral vasculature offers an opportunity to explore this aspect of aging in the absence of alternative direct methods for probing micro-vascular mechanics *in vivo*. Over the years several contributions have been made to the modelization of cerebral neural, metabolic and vascular couplings and their effect on measured functional signals (Mandeville et al., 1999; Buxton et al., 2004; Zheng and Mayhew, 2009; Huppert et al., 2007; Friston, 2000; Boas et al., 2008; Behzadi and Liu, 2005; Aubert et al., 2001; Zheng et al., 2002, 2010). However the link between the complex microscopic changes and macroscopic measures provided by neuroimaging remains weak. When analyzing data at a macroscopic scale, simplifying phenomenological models are often used, which ignore complex cerebral anatomy and “lump” together vascular compartments of different scales. Although these models are simplified portrays of complex brain physiology, they have been shown to provide good fits to empirical data from various modalities and experimental conditions (Obata et al., 2004; Deneux and Faugeras, 2006; Mildner et al., 2001; Tang et al., 2009). In this sense, by integrating complementary information from multimodal imaging, they can be exploited to provide further insight into the relationship between the components of the hemodynamic response: flow, volume and oxygen metabolism.

Beyond fitting experimental data, evidence is accumulating that parameters estimated from these models may have interpretative value. Bottom-up approaches (Huppert et al., 2007; Friston, 2000) and Bayesian inversion (Friston, 2002) have been proposed for inference on model parameters from functional data and correlated to experimental conditions. In animals, multispectral intrinsic optical imaging has been developed and combined with measures of flow to enable the measurement of distinct hemodynamic components in the same experiment (Jones et al., 2001; Culver et al., 2003; Durduran et al., 2004). In particular, intrinsic and speckle flow optical imaging can be combined to gather simultaneous data on blood flow, volume and oxygenation. Based on these measures, it has been shown (Dunn et al., 2005) that specific vascular and metabolic parameters can be estimated from imaging data in controlled experiments removing some of the ambiguities impeding the interpretation of data in atypical populations. It remains to be explored, however, whether these parameter estimates convey useful information on physiology or pathology.

The LOU/c rat, an inbred strain of Wistar origin, is a well-studied animal model of healthy aging. It exhibits longer lifespan free of disease, low adiposity throughout life and

preserved neuroendocrine and metabolic functions (Veyrat-Durebex et al., 2005; Alliot et al., 2002; Kappeler et al., 2004; Duque et al., 2009) and memory capacities when compared to most laboratory rat strains (Kollen et al., 2010). As mentioned earlier, we recently performed a study examining the vascular correlates of aging in this model (Dubeau et al., 2011). Experiments performed showed that functional responses, assessed in the anaesthetized LOU/c rat, were modified with age.

In this work we seek to shed further light on our previous observations by making use of biophysical modelling. The central question of this paper is: Can the combination of multimodal imaging and biophysical modelling be used to estimate changes of physiologically relevant parameters with aging? Designed to capture the essential features of complex phenomena in a relatively simple and concise quantitative description, biophysical models still rely on a moderately large number of parameters, raising issues of estimability and precision. Therefore this paper opens with a study of parameter estimability in three selected models on simulated data. These simulations yield a methodology for estimating biophysical parameters from multimodal data, which is then applied to our previously reported data (Dubeau et al., 2011). The aims of this work are thus 1) to validate and characterize parameter estimability in three selected biophysical models and 2) to estimate and compare parameters from experimental data in groups of young (Y), old (O) and very old (VO) animals. Our results show that most of the parameters are estimable and that several of them are significantly different between age groups. Among our findings, parameters found in other studies to change with age correlate with our estimations. Among these, parameters related to baseline CMRO₂, baseline CBF and microvessel compliance are all estimated to decrease with age.

6.5 Methods

6.5.1 Models and parameter estimations

Three biophysical models from the literature were used to generate the results. The detailed definition of each model is provided in appendix A. Each model gives a mechanistic description mediating between neuronal/synaptic (and metabolic) activity and the observed optical response. The Buxton-Friston (B-F) Balloon model (Buxton and Frank, 1997; Buxton et al., 1998; Friston, 2000) is the simplest and describes the passive inflation of a balloon due to a flow-inducing signal triggered by synaptic activity. The Zheng-Mayhew (Z-M) (Zheng and Mayhew, 2009) model is an extension whereby additional exponents are included to describe delayed compliance of the balloon. Thirdly, the single-compartment Windkessel model (B-H) is a reformulation of recent work of T. Huppert, D. Boas and others (Boas et al., 2003; Huppert et al., 2007), and includes the modelling of oxygen diffusion to tissue

(Fig. 6.1). Each model is described by deterministic dynamical equations for a set of state variables denoted x_i . In the case of the B-F model, $x_i = \{x_s, x_f, x_v, x_q\}$ with x_s the so-called flow-inducing signal, x_f the normalized input blood flow, x_v the normalized venous volume, x_q the normalized deoxyhemoglobin changes in the voxel. A similar description applies to Z-M and B-H (see Appendix A for details):

$$\frac{\partial x_i}{\partial t} = f_i(x_1, \dots, x_n; \alpha_1, \dots, \alpha_p). \quad (6.1)$$

With this deterministic description at hand, the aim was to estimate the posterior density of the set of parameters, α_j , characterizing the differential equations. The parameters for each case are detailed in Table 6.1.

Optical measures described below led to estimates of normalized changes in CBF, HbO, HbR and CBV (assuming constant hematocrit such that $\Delta\text{HbO} + \Delta\text{HbR} = \Delta\text{CBV} = \Delta\text{HbT}$ for relative changes). The output measurements constraining the biophysical models, denoted y_k , were of the form

$$y_k = g_k(x_1, \dots, x_n; \alpha_1, \dots, \alpha_p). \quad (6.2)$$

In the data presented below, a single short stimulation train (1 sec at 3 Hz) was used for parameter estimations leading to a single input, multiple output model (SIMO). The first order differential form above enabled to treat all models on an equal footing for comparison purposes. Bayesian inversion of the models was done following previous work (Friston, 2002). Given measures with Gaussian additive noise, $y_k = g_k + e_k$, we estimated the parameters, α_i using an expectation maximization (EM) algorithm under the assumption of Gaussian posterior density for the parameters α_p described by their conditional mean $\eta_{\alpha|y}$ and covariance $C_{\alpha|y}$. For completeness we summarize the usual procedure here. Expanding around the working estimate $\eta_{\alpha|y}$ of the parameters α_p , treating measures and parameters on an equal footing in an extended system, the E-step to improve the parameter estimates was defined by:

$$\begin{aligned} J &= \frac{\partial g(\eta_{\alpha|y})}{\partial \alpha}, \\ \bar{y} &= \begin{bmatrix} y - g(\eta_{\alpha|y}) \\ \eta_{\alpha} - \eta_{\alpha|y} \end{bmatrix}, \quad \bar{J} = \begin{bmatrix} J \\ I \end{bmatrix}, \quad \bar{C}_e = \begin{bmatrix} \sum \lambda_i Q_i & 0 \\ 0 & C_{\alpha} \end{bmatrix}, \\ C_{\alpha|y} &= (\bar{J}^t \bar{C}_e^{-1} \bar{J})^{-1} \\ \eta_{\alpha|y} &\leftarrow \eta_{\alpha|y} + C_{\alpha|y} \bar{J} \bar{C}_e^{-1} \bar{y} \end{aligned} \quad (6.3)$$

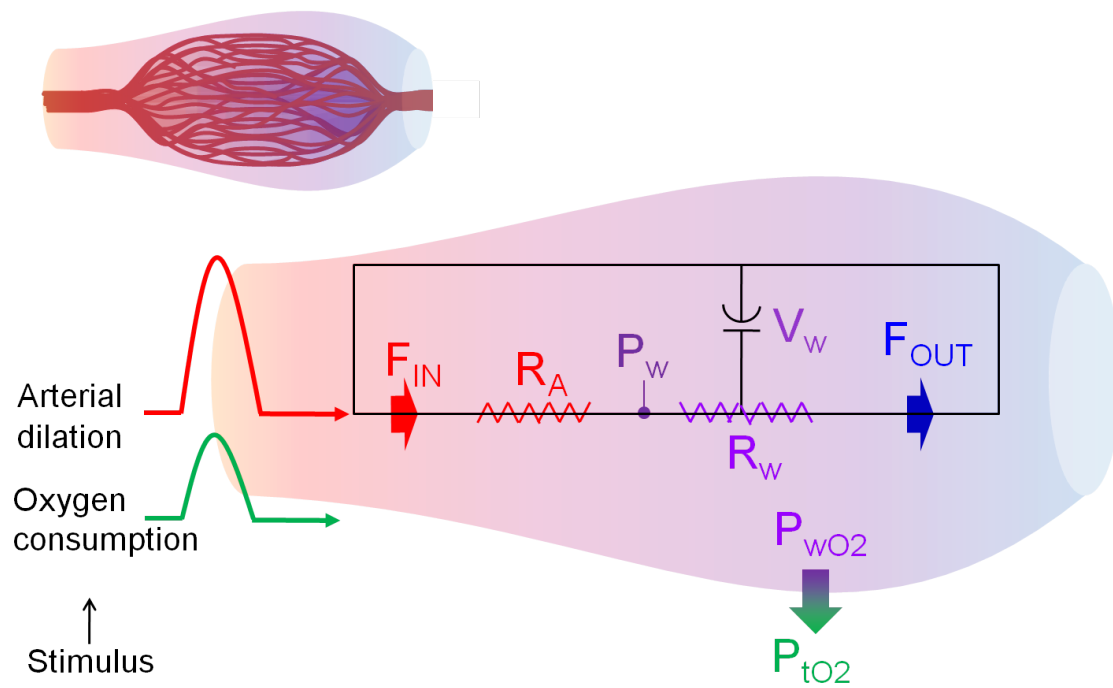


Figure 6.1: Representation of the Boas-Huppert biophysical model. The lumped parameter model depicts a single compliant vascular balloon integrating the hemodynamic response of all microvessels contained in an imaging voxel. In the vascular model, arterial resistance and volume are used to calculate resistance, blood volume, pressure, and flow changes in the balloon from mechanical relations between those physical quantities. The oxygen model describes oxygen diffusion from intra- to extra-vascular space based on flow, volume and oxygen concentration gradient.

Table 6.1: Parameters and units for the Buxton-Friston (B-F), Zheng-Mayhew (Z-M includes B-F parameters) and Boas-Huppert (B-H) models. The first estimate of $\hat{\alpha}_j$ was performed on a wide non-informative distributions with values taken from the literature B-F (Friston, 2000; Zheng et al., 2002), Z-M (Zheng and Mayhew, 2009) and B-H (Huppert et al., 2007).

	α_i	Units	Description
B-F	k_{sf}	s^{-1}	Signal decay rate constant
	k_f	s^{-1}	Autoregulatory feedback rate constant
	τ	s	Transit time
	α	None	Windkessel exponent
	E_0	None	Baseline oxygen extraction function
	ε_r	None	Neural efficacy
Z-M			In addition of the above
	b	None	Gain of vascular tone
	τ_w	s	Vascular tone time constant
B-H	k_{sr}	s^{-1}	Dilation decay rate constant
	k_r	s^{-1}	Dilation feedback rate constant
	k_{sm}	s^{-1}	Metabolic decay rate constant
	k_m	s^{-1}	Metabolic feedback rate constant
	$P_{wO2,0}$	$mm\ Hg$	Windkessel oxygen pressure
	$V_{w,0}$	mL_{brain}	Windkessel volume
	β	None	Windkessel exponent
	δ	None	Location of O_2 extraction in Windkessel
	HGB	g_{Hb}/mL_{blood}	Hb content of blood
	$R_{a,0}$	$mm\ Hg\ s/mL$	Initial arterial resistance
	M_0	$\mu mol/gs$	Baseline $CMRO_2$
	ε_m	None	Metabolic efficacy
	ε_r	None	Vascular efficacy

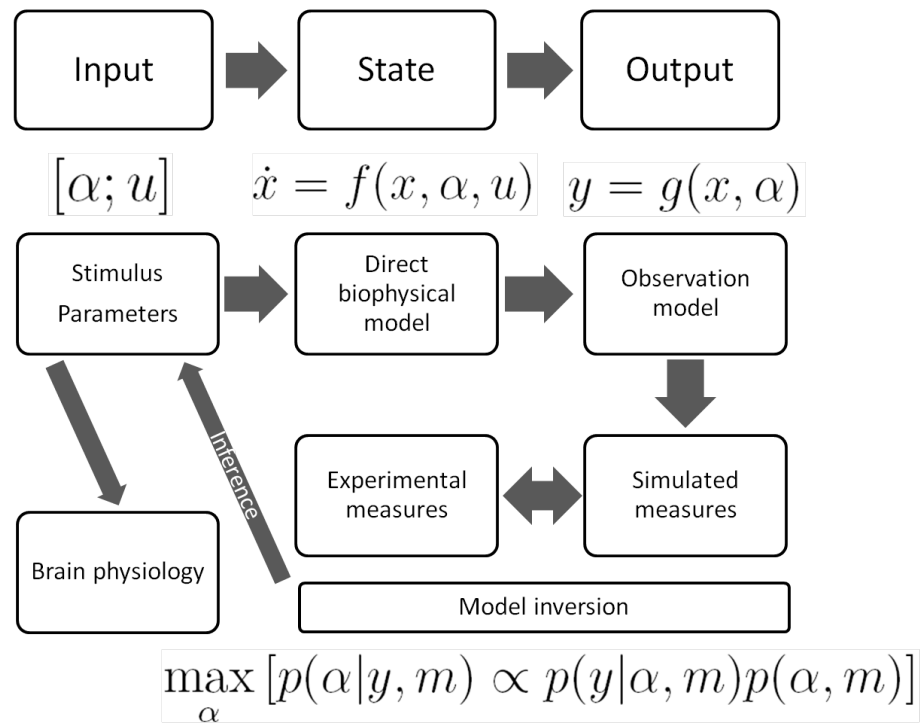


Figure 6.2: Overview of the methodology for the estimation of model parameters within the Bayesian framework.

where the precisions Q_i describe the serial inverse covariance associated with each measure type. The M-step to improve the hyperparameters λ_i was defined by

$$\begin{aligned}
 P &= \bar{C}_e^{-1} - \bar{C}_e^{-1} \bar{J} C_{\alpha|y} \bar{J}^t \bar{C}_e^{-1}, \\
 \frac{\partial F}{\partial \lambda_i} &= -\frac{1}{2} \text{tr}[P Q_i] + \frac{1}{2} \bar{y}^t P^t Q_i P \bar{y} \\
 \left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \lambda_{ij}} \right\rangle &= -\frac{1}{2} \text{tr}[P Q_i P Q_j] \\
 \lambda &\leftarrow \lambda - \left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \lambda_{ij}} \right\rangle^{-1} \frac{\partial F}{\partial \lambda_i}
 \end{aligned} \tag{6.4}$$

For each model, the parameter estimations proceeded through alternating E and M-steps until convergence. The three biophysical models were compared with each other by evaluating a scalar function, the log-evidence F on the data. An overview of the procedure is provided in Fig. 6.2.

6.5.2 Priors estimation

The Bayesian inversion technique relies on informative priors and the validity of parameter estimations is dependent on these prior distributions. The procedure adopted here to estimate priors was to perform first a series of parameter estimations in conditions where each parameter was considered to have a large flat prior around the expected physiological values from the literature. For all recordings below, independently of the age group, a first estimate of $\hat{\alpha}_j$ was performed with values obtained from the literature (see Table 1) and wide non-informative distributions. From these estimates, for each model we extracted average values of η_α and C_α . These values served as a new set of priors that were then used for the simulations below.

6.5.3 Validation of parameter estimability in simulations

Since the biophysical models are described by a moderately large number of parameters (between 6 and 13), the practical issue of their estimability was first assessed. For each model, 1000 simulations with distinct parameters were performed to explore the parametric space. Hemodynamic responses were generated by first choosing at random the parameters in a Gaussian distribution described by α_i (mean \pm SD = $\alpha_i \pm 0.2\alpha_i$). In each case, the differential system was integrated to generate simulated hemodynamic curves. Noise at a level similar to our experimental data was then added to the curves (correlated white noise of amplitude 10% (HbR), 12% (HbT) and 30% (CBF) of the maximum signal amplitude obtained by low pass filtering white noise with a 2nd order Butterworth filter at 0.1 Hz).

From Bayesian model inversion on the simulated data, parameters $\hat{\alpha}_i$, corresponding errors $\epsilon_i = \alpha_i - \hat{\alpha}_i$ and correlations were calculated.

6.5.4 Experimental recordings

The experimental procedure is described elsewhere (Dubeau et al., 2011). Briefly, young (Y, 4-5 months), old (O, 24-32 months) and very-old (VO, 40-41 months) male and female LOU/c rats were studied. They were obtained from the Aging LOU Rat Colony of the Québec Network for Research on Aging (RQRV: www.rqrv.com) (LOU/c/rqrv). Animals were anaesthetized with α -chloralose and ventilated. CO₂ levels, heart rate and blood pressure were monitored. Stimulations were generated by an electrical stimulator (A-M system 2200, WA, USA) with intensity controlled by custom Labview software (National Instrument, USA). As a first step, the current intensity associated with the muscular threshold was determined. During imaging, stimulation current amplitude was fixed to 0.9 times the measured muscular threshold (average 1.05 ± 0.15 mA), and always maintained between 0.7 and 1.5 mA. Two interlaced trains of either three or six electrical pulses were used (3 Hz, 300 μ s, 0.7-1.5 mA) to generate 1 s or 2 s stimulation trains. Only the 1 s stimulations were used in this work. Stimulation trains were repeated every 20 s with a jitter of 3 s to avoid systemic synchronization. Stimulations were repeated 40 times. All procedures were conducted according to the recommendations of the Canadian Council for Animal Care and were approved by the animal ethics committee of Montreal Sacré-Coeur Hospital Research Center. Images were acquired with a CCD camera (Toshiba Teli, ON, Canada). Functional images were recorded with multiple wavelength flashing illumination (525, 590, 637 nm) produced by Light Emitting Diodes (LEDs; Optek Technologies, TX, USA). For laser speckle imaging, a near infrared 780 nm laser diode was used and the camera aperture of 5.6 was such that the pixel size matched the speckle size (Briers et al., 1999; Briers, 2001). The three illumination LEDs and laser were interlaced, leading to a final frame rate of 5 Hz for each wavelength. The camera's shutter speed was set at 10 ms.

6.5.5 Hemodynamic data analysis

Spectroscopic imaging analysis was performed following (Dunn et al., 2003). Reflectance signals from the LEDs are collected with the CCD camera and are converted to changes in absorption $\Delta A = \log(R/R_0)$. A pseudo-inverse and the modified Beer-Lambert law were then used to extract relative changes in HbR and HbO:

$$\Delta A(\lambda) = \sum_{i=HbO, HbR} \epsilon_i(\lambda) \Delta C_i D, \quad (6.5)$$

where ΔA represents changes in absorptions for the three wavelengths used and ϵ_i and C_i are the molar extinction coefficients and concentrations. $D(\lambda)$ is the differential path length factor taken from Dunn (Dunn et al., 2005) where shorter and longer wavelengths were extrapolated from Kohl (Kohl et al., 2000). Baseline concentrations of 60 μM and 40 μM for HbO and HbR (Dunn et al., 2005) were assumed to convert absolute to relative concentrations. Variations ΔA were averaged over the 40 stimulations. Block-averaged variations were then further temporally low-pass filtered at 0.3 Hz (zero phase-shift fifth-order Butterworth filter) to suppress high frequency noise, mainly due to animal respiration. Blood flow was computed by quantifying the spatial contrast during laser illumination, defined as the ratio of the standard deviation to the mean intensity in a given spatial area. The spatial contrast, S , can be related to the correlation time τ_c of the speckle (Briers, 2001) which is inversely proportional to the mean velocity of the scatterers ν . 5×5 pixel regions were used to calculate the contrast image and the normalised variation of the blood flow $\Delta\nu/\nu_0$ was obtained by the following formula (Dunn et al., 2001, 2005; Duncan and Kirkpatrick, 2008):

$$\text{CBF} \simeq \frac{\Delta\nu}{\nu_0} \simeq -2 \frac{\Delta S}{S_0}. \quad (6.6)$$

For each animal, the response spatial location in the somatosensory cortex was first identified. A region of interest (ROI) around the maximum response was defined manually and contributions from medium and large arteries and veins found in the ROI were carefully removed. The signal was then averaged over all pixels in the region of interest, and over the 40 stimuli to recover an impulse response function for each component: HbO, HbR and CBF. Using the measurement models of the appendix, the measures were mapped to normalized variables $y_{\text{CBF}} = \text{CBF}/\text{CBF}_0 - 1$, $y_{\text{HbT}} = (\text{HbR} + \text{HbO})/(\text{HbR}_0 + \text{HbO}_0) - 1$, $y_{\text{HbR}} = \text{HbR}/\text{HbR}_0 - 1$ that entered the Bayesian inversion procedure described above to estimate model parameters.

6.5.6 Statistical analysis

Estimated parameters from *in vivo* data were compared between age groups by means of one-way ANOVA along with post-hoc Tuckey-Kramer multiple comparisons test. P-values less than 0.05 for ANOVA were considered as significant. Statistical significance of post-hoc analyses were defined as values of $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), and $P < 0.001$ (***)

6.6 Results

6.6.1 Simulations for parameter estimability

1000 hemodynamic response curves were generated for each model using Eq.(6.1) and Eq.(6.2) to which three levels of noise were added. The expectation-maximization algorithm above was applied to these noisy curves to extract the parameters $\hat{\alpha}_i$ and corresponding errors $\epsilon_i = \alpha_i - \hat{\alpha}_i$. Estimation errors for each model are shown in Table 6.2. These errors were tabulated through their mean over all simulations (quantifying estimation bias) and standard deviation. All results are presented in normalized form.

For the B-F model, the estimates $\hat{\alpha}_i$ had a very small bias and the standard deviation was less than 11% for all parameters. When the measurement noise level was decreased by an order of magnitude (100% to 10%), all parameters were recovered to within a SD of about 1% except τ at about 3%.

The Z-M model extends the B-F model by two parameters to depict delayed compliance of the balloon. For the two new parameters, b and τ_w , the estimated SD exceeded 40%, at 100% noise. To confirm the poor estimability of b and τ_w , we evaluated Eq.(6.1) and Eq.(6.2) deterministically, by varying the parameters one at a time and observing the effect on the hemodynamic response: indeed an increase of 50% of either parameter had a very small effect on the response (Fig. 6.3). Comparable variations of the other, better estimable, parameters induced visible changes on the hemodynamic curves (Fig. 6.3). For the B-H model, an initial set of 13 parameters were used to fit the data. Among these, three parameters ($\kappa_{sm}, \kappa_m, \delta$) did not have a sizeable impact on the shape of the hemodynamic curves.

For all models we computed the correlations between parameters. The corresponding correlation maps are presented in Fig. 6.4. We observe in all models a correlation between the feedback and decay rate constants for the flow-inducing signal (B-F and Z-M) and the analogous dilation-inducing signal (B-H), signalling potential cross-talk between these parameters. Other parameters were reasonably decoupled.

6.6.2 Parameter estimations of Y, O and VO rats

With the procedure validated and the parameter estimability completed, we proceeded to parameter estimations for on the real data. A typical activation region as well as the associated response averaged over age groups are presented in Fig. 7.5. Contributions from medium and large arteries and veins found in the ROI were carefully removed manually, and the analysis was performed over the remaining pixels.

The three models fit the hemodynamic response with a good accuracy as shown in Fig. 6.6A,C. With respect to the mean quadratic error, the B-H model was slightly bet-

Table 6.2: For each model: (Top) error ϵ_i for 1000 simulations (mean \pm SD), for different levels of noise (100% , 33% and 10% of the actual noise level measured in our experiments). All errors expressed as percent change relative to simulated value. (Bottom) Mean quadratic error for the 1000 simulations.

		100%	33%	10%
B-F	$\langle k_{sf} \rangle$	0.3% \pm 7.1%	0.1 \pm 2.5	0.1 \pm 1.2
	$\langle k_f \rangle$	0.3 \pm 6.8	0.0 \pm 2.3	0.1 \pm 1.0
	$\langle \tau \rangle$	0.3 \pm 11	0.1 \pm 4.8	0.2 \pm 3.2
	$\langle \alpha \rangle$	0.2 \pm 6.9	0.0 \pm 2.2	0.0 \pm 0.9
	$\langle E_0 \rangle$	0.1 \pm 3.3	0.1 \pm 1.9	0.0 \pm 1.3
	$\langle \varepsilon_f \rangle$	-0.2 \pm 8.0	0.0 \pm 2.7	0.1 \pm 1.1
	error (10^{-6})	8.2 \pm 6.3	0.89 \pm 0.71	0.091 \pm 0.087
Z-M	$\langle k_{sf} \rangle$	-0.1 \pm 8.6	0.2 \pm 3.2	0.2 \pm 1.8
	$\langle k_f \rangle$	-1.7 \pm 12	-0.0 \pm 3.9	0.1 \pm 1.8
	$\langle \tau \rangle$	-1.0 \pm 15	0.1 \pm 5.6	0.5 \pm 3.7
	$\langle \alpha \rangle$	-0.2 \pm 9.0	0.3 \pm 3.2	0.2 \pm 2.2
	$\langle E_0 \rangle$	0.3 \pm 3.5	0.1 \pm 2.4	0.1 \pm 2.1
	$\langle \tau_w \rangle$	2.2 \pm 42	1.4 \pm 26	1.3 \pm 19
	$\langle b \rangle$	-8.3 \pm 89	-1.5 \pm 33	1.4 \pm 23
	$\langle \varepsilon_f \rangle$	-1.3 \pm 9.7	-0.0 \pm 3.5	0.3 \pm 2.0
	error (10^{-6})	8.4 \pm 6.9	0.96 \pm 0.80	0.13 \pm 0.30
B-H	$\langle k_{sr} \rangle$	0.8 \pm 9.3	0.4 \pm 4.4	-0.1 \pm 2.8
	$\langle k_r \rangle$	0.6 \pm 8.9	0.2 \pm 4.1	-0.2 \pm 2.8
	$\langle k_{sm} \rangle$	11 \pm 26	5.9 \pm 17	3.1 \pm 16
	$\langle k_m \rangle$	10 \pm 22	4.6 \pm 15	2.9 \pm 14
	$\langle P_{wO2,0} \rangle$	1.3 \pm 7.3	-0.2 \pm 4.0	-0.1 \pm 4.1
	$\langle V_{w,0} \rangle$	-1.1 \pm 20	0.3 \pm 19	2.7 \pm 16
	$\langle \beta \rangle$	-0.8 \pm 14	-1.6 \pm 10	0.9 \pm 8.1
	$\langle \delta \rangle$	4.7 \pm 27	4.7 \pm 21	1.2 \pm 19
	$\langle \text{HGB} \rangle$	1.4 \pm 23	0.0 \pm 19	-2.1 \pm 17
	$\langle R_{a,0} \rangle$	2.2 \pm 21	2.1 \pm 21	1.8 \pm 20
	$\langle M_0 \rangle$	1.5 \pm 22	3.6 \pm 17	0.9 \pm 14
	$\langle \varepsilon_m \rangle$	-0.5 \pm 31	1.1 \pm 25	1.8 \pm 22
	$\langle \varepsilon_r \rangle$	0.6 \pm 10	0.1 \pm 6.0	0.4 \pm 5.2
	error (10^{-6})	8.8 \pm 6.6	1.0 \pm 1.1	0.13 \pm 0.24

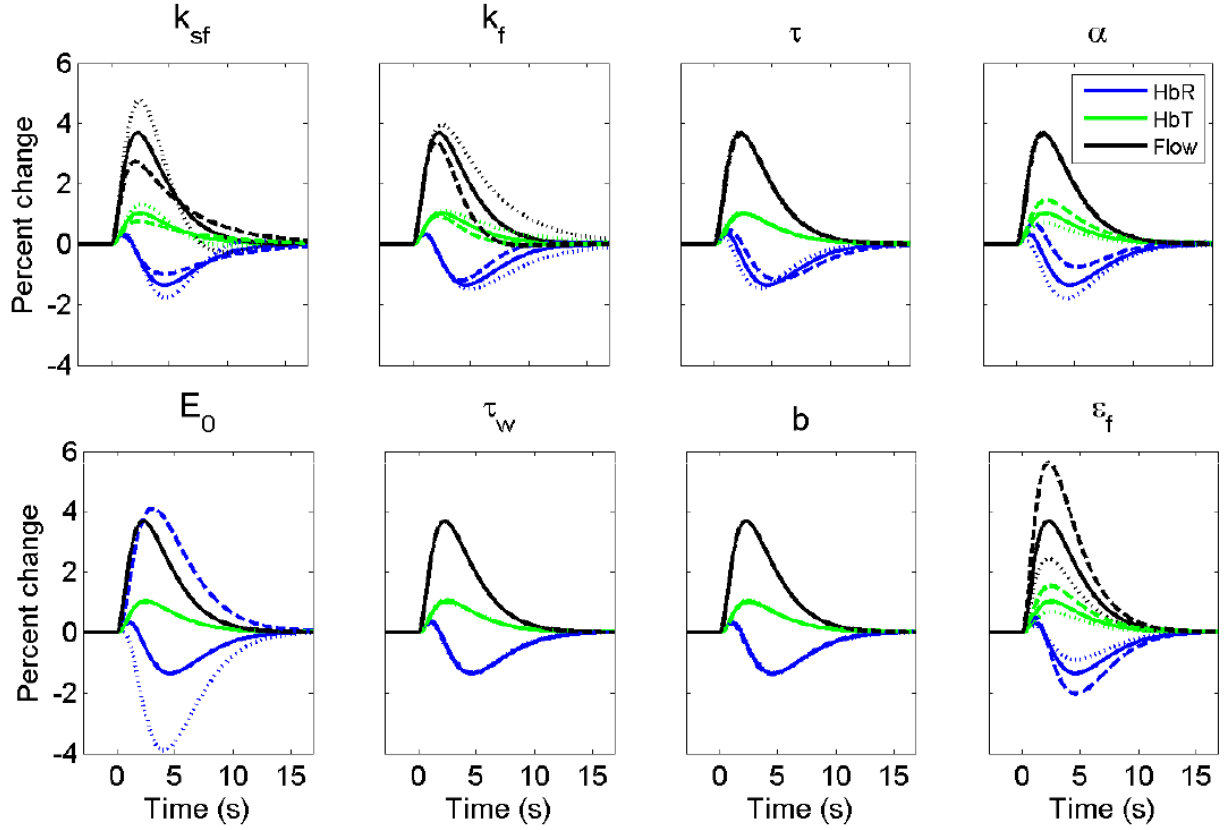


Figure 6.3: Simulated data (full line) and effect of a -33% (dotted line) and $+50\%$ (dashed line) change in the parameters of the Z-M model on the response for CBF (black), HbT (green) and HbR (blue). The two parameters τ_w and b have a small influence on the shape of the hemodynamic curves.

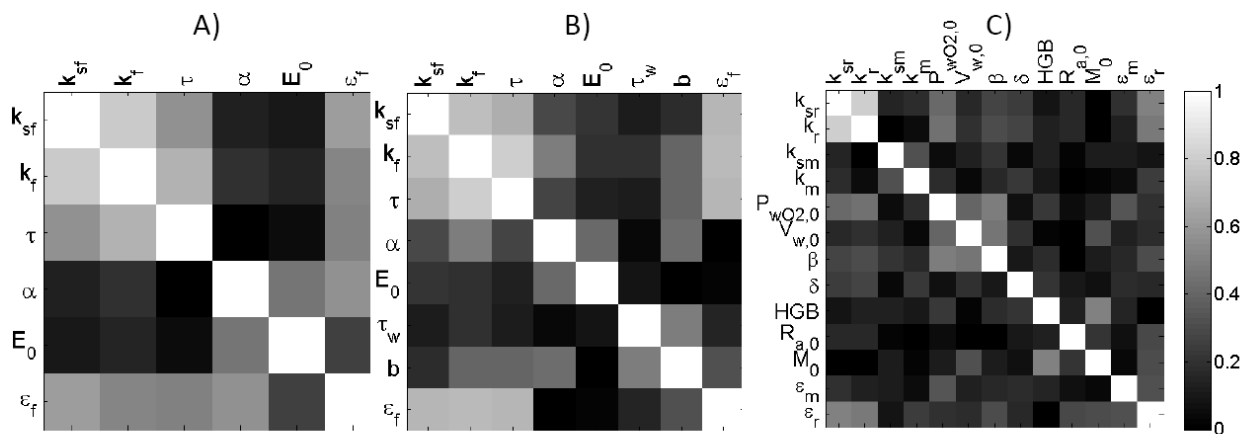


Figure 6.4: Correlation matrix formed from the pairwise correlation of the errors ϵ_i for the (A) B-F, (B) Z-M and (C) B-H models. In all models, correlations are observed between flow inducing and decay rate constants. Other parameter pairs are mostly well decorrelated.

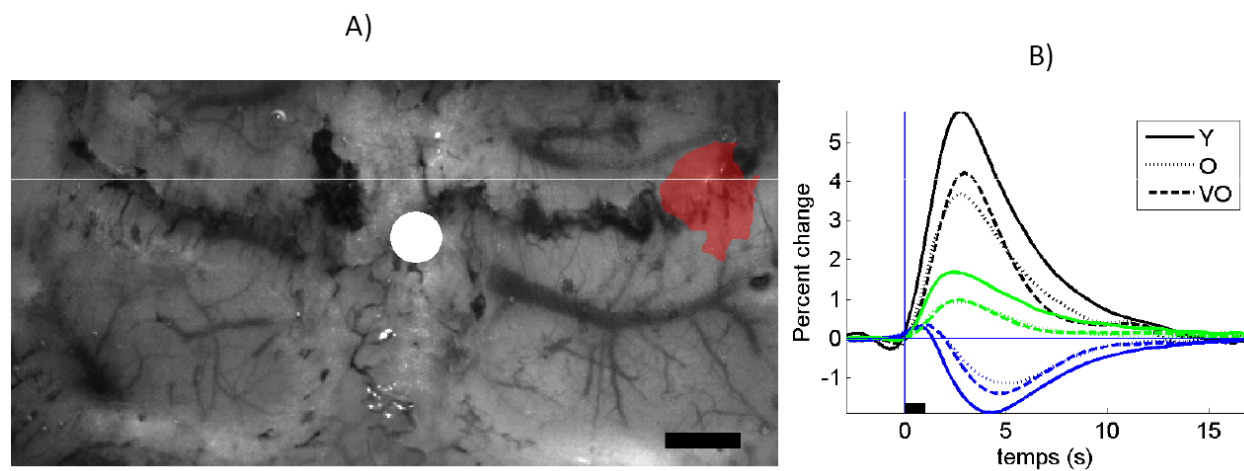


Figure 6.5: A) Anatomical image recorded with illumination at 525 nm. White dot corresponds to bregma. Reddish blob in upper right corner: ROI of maximal activation (with arteries and veins carefully removed from the ROI). Black bar: 1 mm. B) Average hemodynamic response (HbR(blue), HbT(green), CBF(black)) for the three age groups.

ter, followed by B-F and Z-M, but the difference between the three models was not significant ($P>0.05$). The log-evidence values were also higher for the B-H model (Fig. 6.6B), followed by Z-M and B-F, but with no significant difference ($P>0.05$). We also noted that the Z-M model had a higher log-evidence than the B-F model on almost all rats. Therefore we could not exclude any model, and we presented all three.

We compared the estimated parameters for the three different age groups. The results are summarized in Table 6.3. The B-F model showed a significant increase in the transit time τ and a decrease in the neural efficacy ε_r with aging. For the Z-M model, we observed similar results to the B-F model, consistent with expectations from the similarity of the models. However the Z-M model led to larger variance in the estimated parameters for the two older groups. For the two additional parameters in the Z-M model, the previous simulations predicted large errors due to their small effects on the hemodynamic curves. This is reflected in the estimates of Table 6.3 showing large intragroup variance. However, even with high intragroup variance, the time constant of the muscle tone τ_w decreased significantly with age ($P<0.01$).

For the B-H model, our simulations indicated that parameter estimations led to larger errors (20-30%) on almost all parameters. Even with this added ambiguity, parameters estimates were modulated by aging. Of the 13 parameters that were estimated in the B-H model, four had a significant change with age: β , k_r and k_{sm} ($P<0.05$) and M_0 ($P<0.01$). From the set of 13 initial parameters, other physical parameters were also derived (see relations between these parameters in Appendix A) to map to physiological values relevant to aging. The transit time τ for the B-H model was similar to values obtained from the Z-M model. The Grubb exponent coefficient α was also close to values obtained by Z-M and B-F models; but in the case of the B-H model, its value did see a significant diminution with age. The baseline flow $F_{in,0}$ also decreased with aging.

To further illustrate whether differences in parameters estimated above led to distinct hemodynamic curves, we show in Fig. 6.7 the curves modelled by the B-F model with the values of τ estimated from the three different groups. It confirms that estimated changes in the parameters do induce changes in the group hemodynamic curves.

6.7 Discussion

All models used here were able to fit the data with good accuracy. The simpler dynamics offered by the Buxton-Friston and the Zheng-Mayhew model facilitated parameter estimability. In the context of multimodal optical imaging, these models are incomplete as they do not speak to the oxygenation and metabolic components. On the other hand, the

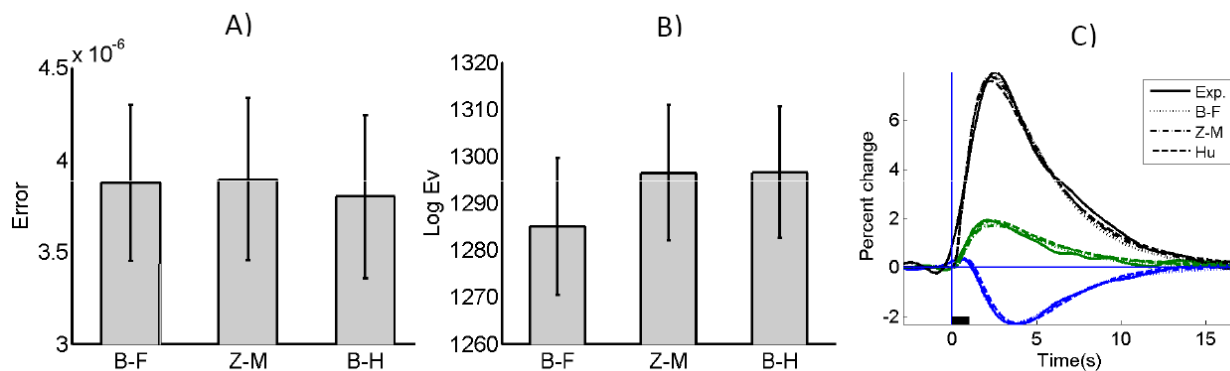


Figure 6.6: A) Error and B) Log-evidence measured for the three models. $N=30$ rats, after electric forepaw stimulation. Error bars represent standard deviation. C) Typical experimental hemodynamic response for one rat for HbR(blue), HbT(green) and CBF(black) and estimated fits for three models (mean quadratic error of the fit: $4.1 \cdot 10^{-6}$). Black bar: electric forepaw stimulation (0.3 ms at 3 Hz during 1 s).

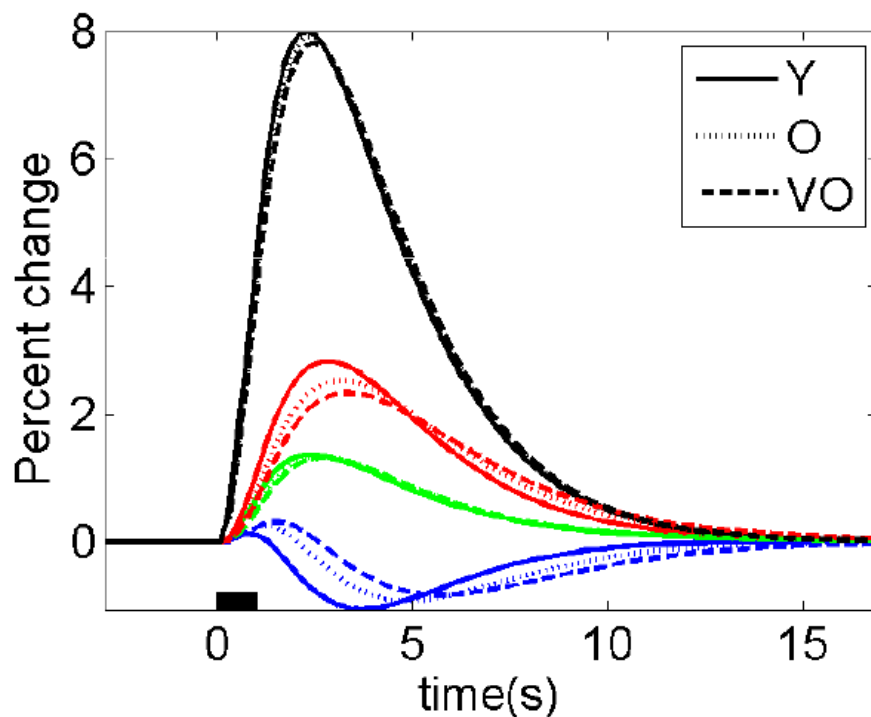


Figure 6.7: Example of simulated curves for CBF (black), HbO (red), HbT (green) HbR (blue) from the Buxton-Friston Model using values for the parameter τ extracted from the different age groups.

Table 6.3: Age group comparison for the 3 models: Estimated parameters and priors (mean \pm SD). Notation for statistical significance: **bold**: $P < 0.01$; underlined: $P < 0.05$.

		Y	O	VO	Priors
B-F	k_{sf}	1.05 ± 0.20	1.07 ± 0.28	1.08 ± 0.22	1.05 ± 0.04
	$k_f * 10$	2.41 ± 0.62	3.09 ± 1.1	3.30 ± 0.90	2.86 ± 0.08
	τ	0.79 ± 0.34	1.35 ± 0.44	1.37 ± 0.24	1.13 ± 0.03
	$\alpha * 10$	2.00 ± 0.35	1.73 ± 0.45	1.69 ± 0.26	1.86 ± 0.05
	$E_0 * 100$	85.1 ± 3.9	87.2 ± 3.0	86.4 ± 3.7	85.8 ± 0.5
	$\varepsilon_f * 100$	<u>7.7 ± 3.0</u>	<u>5.6 ± 1.8</u>	<u>5.1 ± 1.7</u>	6.2 ± 0.3
Z-M	k_{sf}	1.15 ± 0.29	1.02 ± 0.23	1.16 ± 0.44	1.15 ± 0.05
	$k_f * 10$	2.56 ± 0.82	3.13 ± 0.91	4.48 ± 1.86	3.31 ± 0.10
	τ	0.81 ± 0.22	1.60 ± 1.09	2.28 ± 1.20	1.45 ± 0.04
	$\alpha * 10$	2.05 ± 0.43	1.76 ± 0.56	1.84 ± 0.42	1.93 ± 0.06
	$E_0 * 100$	85.0 ± 4.1	87.0 ± 3.9	84.9 ± 5.6	85.4 ± 0.5
	τ_w	7.45 ± 3.5	4.0 ± 2.4	3.6 ± 2.5	5.1 ± 2.56
	b	2.2 ± 4.6	1.9 ± 7.9	6.6 ± 6.3	3.5 ± 1.1
	$\varepsilon_f * 100$	<u>8.3 ± 3.6</u>	<u>5.7 ± 1.5</u>	<u>6.4 ± 1.6</u>	7.1 ± 0.3
B-H	k_{sr}	1.17 ± 0.23	1.14 ± 0.22	1.12 ± 0.22	1.06 ± 0.05
	$k_r * 10$	<u>2.65 ± 0.56</u>	<u>3.34 ± 0.86</u>	<u>3.54 ± 0.85</u>	2.95 ± 0.10
	$k_{sm} * 10$	<u>7.3 ± 3.0</u>	<u>5.0 ± 2.5</u>	<u>3.9 ± 3.3</u>	8.1 ± 1.1
	$k_m * 10$	1.47 ± 0.74	1.60 ± 0.61	1.63 ± 0.62	2.02 ± 0.19
	$P_{wO2,0}$	58.6 ± 3.3	60.3 ± 4.0	60.1 ± 4.1	58.8 ± 0.8
	$V_{w,0} * 100$	5.9 ± 0.6	5.7 ± 0.5	5.7 ± 0.6	5.1 ± 0.4
	β	<u>2.26 ± 0.75</u>	<u>3.29 ± 1.32</u>	<u>3.39 ± 0.69</u>	2.65 ± 0.12
	$\delta * 100$	20 ± 10	22 ± 14	27 ± 13	32 ± 7
	HGB * 10	1.82 ± 0.13	1.89 ± 0.08	1.87 ± 0.09	1.83 ± 0.14
	$R_{a,0}/1000$	4.34 ± 0.76	3.76 ± 1.20	3.83 ± 1.53	4.38 ± 0.57
	$M_0 * 100$	3.6 ± 1.2	1.9 ± 1.1	1.7 ± 1.0	2.6 ± 0.3
	$\varepsilon_m * 100$	8.0 ± 3.2	5.6 ± 2.8	5.2 ± 3.4	8.0 ± 1.3
	ε_r	1.13 ± 0.40	0.95 ± 0.27	0.88 ± 0.17	0.88 ± 0.05
	$F_{in,0} * 100$	5.0 ± 1.6	3.0 ± 2.3	2.21 ± 0.69	
	Transit time	1.32 ± 0.51	2.6 ± 1.2	2.76 ± 0.83	
	$\alpha * 10$	<u>2.41 ± 0.41</u>	<u>2.01 ± 0.52</u>	<u>1.89 ± 0.26</u>	

single-compartment Boas-Huppert model contains both vascular and metabolic parameters that are expected to change with age. While evidence was presented (Huppert et al., 2007; Zheng et al., 2005) that a 3-compartment model would be more accurate, we chose a simpler 1-compartment model in order to limit the number of parameters and focus on the physiologically most relevant ones.

Our original endeavour was to establish whether biophysical model estimations convey changes associated with aging. In our rat populations, we were able to identify a few parameters that changed significantly with age. In both the B-F and Z-M descriptions, this was the case for the transit time and neural efficacy. The increased transit time agrees with published data indicating increased tortuosity of microvasculature with age (Kalaria, 1996). The reduced neural efficacy with aging would corroborate alterations of neuro-vascular coupling with aging (D’Esposito et al., 2003). It was not clear from the onset whether the phenomenological description provided by these lumped parameter models would reflect the physiopathology of aging: The results here provide non-trivial empirical validations of the biophysical models. This, we believe, justifies further use and developmental work on biophysical models. For the Z-M model estimates, a significant reduction was seen in the vascular tone time constant, τ_w , indicating potential changes related to compliance. The authors of the model (Zheng and Mayhew, 2009) had already observed a large variance in the estimates of τ_w and b .

6.7.1 Estimate of oxygen extraction

For both the B-F and Z-M models, the oxygen extraction estimate E_0 of 0.85 was higher than values of 0.5 used in the simulation by Zheng et al. (2002) and of 0.34 found by Friston (2000). Both these papers mentioned that a higher value of E_0 causes an initial dip in the deoxyhemoglobin curve. In our study, we validated in separate estimations that the higher value of E_0 was due to the inclusion of the deoxygenation measures and the associated fit of the initial dip. We also validated that removing the HbR measure entirely from the estimation led to lower estimates for E_0 . The results cannot be easily compared with (Friston, 2000; Zheng et al., 2002) since they modeled measurements from different modalities.

6.7.2 Estimate of Grubb exponent α

The B-H model enabled the estimation of both vascular and metabolic components. We found significant age-related differences in four estimated parameters. β was seen to increase with age leading to estimates of the Grubb exponent $\alpha = (2 + \beta)^{-1}$ that decreased with age. The values of $\alpha \in [0.24, 0.19]$ were found to be within the range observed in the literature (reviewed in Leung et al. (2009)), though lower than the value originally measured in monkeys

(0.38, Grubb et al. (1974)). A second parameter of interest, M_0 the baseline CMRO_2 , was also found to decrease with aging. This result is consistent with separate studies performed with PET (Burns and Tyrrell, 1992; Takada et al., 1992; Leenders et al., 1990) however the observed percent decrease is higher than found with PET. The rate constants associated with vessel dilation and metabolic decay also changed with age signalling changes associated with the neurovascular coupling but their interpretation remains more elusive. Finally, derived parameters were computed from the model parameters: The baseline blood flow $F_{in,0}$ was seen to decrease with age and the transit time, τ , to increase. Both estimations were in agreement with the literature on changes associated with aging (Ances et al., 2009; Kalaria, 1996).

6.7.3 Estimate of baseline oxygen saturation S_{wO_2}

In the B-H model, we also estimated a value of Windkessel O_2 pressure of 59%, yielding an oxygen saturation of 90%. This is higher than values reported in the literature for capillaries saturation S_{cO_2} of about 70% (Mesquita et al., 2009; Huppert et al., 2009). We tried fixing the value of S_{wO_2} to literature values, but the constrained model would not fit our experimental data. Despite this ambiguity, we believe the estimate of S_{wO_2} can still be used to compare between age groups.

6.7.4 Bayesian estimation

In the estimations, we chose to use an EM approach with informative priors. Compared to the least-square method used in Huppert et al. (2007), this approach provided a natural framework to constrain parameters within physiological bounds. Bayesian methods including EM have previously been questioned due to the presence of these priors. Here we were careful to evaluate priors on our whole population by using non-informative probability laws for the parameters. With the thus-evaluated priors, we indeed observed, in simulations and in our data, that some parameters were constrained (as they should be). This constraint is similar to the bounds that are used in least-square approaches to keep parameters in the physiological range. However, when comparing young, old and very old groups, using identical priors, our parameters still yielded statistical differences between groups suggesting that the priors were sufficiently flat to observe the changes that accompany aging.

To identify the best model, and whether the same models were appropriate to study all age groups, we used the log-evidence as objective function. We found no statistical significant change in log-evidence as a function of age confirming that the biophysical model description can span the years over which our animal population was imaged. The log-evidence was

also used to compare the biophysical models with each other. The B-H model was found to have the highest log-evidence value but since the difference with the other models was not significant, we could not conclude that it was the best model in our data set. The Z-M model was previously evaluated to outperform the B-F version (Zheng and Mayhew, 2009) based on Akaike’s information criterion. The log-evidence results here reproduced their result. These mitigated results justified performing and presenting the estimates for the three models. In doing so, the consistency found between models on observed parameters provided additional confirmation that the approach yields interpretable results.

6.7.5 Limitations

The interpretation of biophysical parameters in the context of aging done here has to be taken with caution. While some parameters were identified to correlate with expectations from changes associated with aging, the models remain phenomenological. A link between microscopic cerebrovascular changes and the lumped parameter description has not been clearly established to date and values found reflect this phenomenological description. The Balloon-Windkessel description typically integrates changes in an imaging voxel (or ROI) and thus reflects the pooled changes of all (micro)vasculature in the voxel. In the context of aging, vascular changes are expected to be systemic and it is plausible that the lumped parameters reflect micro-vascular changes, but more work is required to clearly establish these links. Recent progress in Vascular Anatomical Network (VAN) models (Boas et al., 2008; Fang et al., 2008) may provide an avenue to answer some of these questions and is the subject of further work.

Even in this invasive preparation, optical measures may be subject to confounds that are not due to vascular changes *per se*. For example, it has been documented (Duncan et al., 1996) that the scattering of light by brain tissue varies with age. These changes may affect the amplitudes of the signals measured and contribute to the statistical changes observed. However, biophysical models are mostly estimated based on the dynamical changes of the signal and static variations in scattering are expected to have lower impact on these estimations. The estimation of HbO and HbR from multispectral data requires that the reflected light originates from the same tissue volume. With wavelength-dependent absorption and scattering, the volume of tissue probed by the camera is not identical and this heterogeneity, combined with structural changes of the microvasculature with age, may also yield differences in ratios between HbO and HbR for example.

6.8 Conclusion

In this work, biophysical models were used to study changes in the hemodynamic signal with age. We found in simulations that while the models have a moderately large number of degrees of freedom, parameters can be estimated with multimodal measures. In our data, the estimated changes with age correlated to known physiopathology of aging suggesting that the combination of multimodal imaging and biophysical modelling may be able to characterize some aspects of vascular changes occurring with age. While the invasive imaging techniques used here are not translatable to humans, this study suggests a perspective for studying vascular changes in humans using multimodal imaging, such as functional magnetic resonance imaging combined with diffuse optical imaging.

Acknowledgements

We thank the Quebec Network for Research on Aging, a thematic network supported by the Fonds de la Recherche en Santé du Québec, for providing us with the LOU rat used in the present study. S Dubeau was partly supported by a RQRV pilot grant to GF, FL, EB and PG. MD was supported by a Vanier Canada Graduate Scholarship. FL was supported by a Canadian NSERC Discovery grant.

6.9 Apendice: Normalized form of the different biophysical models

The EM algorithm used to generate estimates for the biophysical models requires that both the dynamical model and the measurement model be in a first-order differential equation form. Below we provide the explicit realization of these forms for the three models used here.

6.9.1 Buxton-Friston model

The Buxton-Friston (B-F) hemodynamic model has been described extensively elsewhere (Buxton et al., 1998; Friston, 2000). The state variables are defined by $X = \{x_{sf}, x_f, x_v, x_q\}$ with parameters $\alpha = \{\kappa_{sf}, \kappa_f, \tau, \alpha, E_0, \varepsilon_f\}$, and the inputs are $u(t)$. With our data this is a single-input, multiple-output (SIMO) model as we measure blood volume, deoxy-hemoglobin changes and flow. The state equations are:

$$\begin{aligned} \dot{x}_{sf} &= \varepsilon_f u(t) - \kappa_{sf} x_{sf} - \kappa_f (x_f - 1), & \dot{x}_f &= x_{sf} \\ \dot{x}_v &= \frac{1}{\tau} (x_f - f_{out}) \text{ where } f_{out} = x_v^{1/\alpha} \\ \dot{x}_q &= \frac{1}{\tau} \left(x_f \frac{1 - (1 - E_0)^{1/x_f}}{E_0} - x_q x_v^{-1+1/\alpha} \right). \end{aligned} \tag{6.7}$$

The integration for x_f, x_v, x_q is performed in log space to enforce their positivity. The measurement model for the outputs $y = g(x)$ is

$$y_{\text{HbT}} = c_v(x_v - 1), \quad y_{\text{HbR}} = c_q(x_q - 1) \quad \text{and} \quad y_{\text{CBF}} = c_f \frac{x_f + f_{\text{out}} - 2}{2}$$

where the first two time series are obtained from intrinsic imaging, the last from speckle imaging, and c_v, c_q and c_f are constants fitted from the data.

6.9.2 Zheng-Mayhew model

This model is a direct extension of the B-F model, with a small change in the equation for x_v , two more parameters $\{\tau_w, b\}$ and one additional state variable x_w , the vascular compliance (also integrated in log space):

$$\dot{x}_v = \frac{1}{\tau} \left(x_f - \frac{f_{\text{out}}}{x_w} \right), \quad \dot{x}_w = \frac{1}{\tau_w} \left(-x_w + \exp(-b \dot{x}_v) \right). \quad (6.8)$$

6.9.3 One compartment Windkessel model

We write the Windkessel model in a formulation with 7 state variables $\{x_{sr}, x_r, x_{sm}, x_m, x_v, x_t, x_p\}$. Here x_r is the vascular resistance, x_v the volume, x_m the cerebral metabolic rate of oxygen, x_t and x_p the oxygen pressures in tissue and in the Windkessel. Finally x_{sr} and x_{sm} are stimulus-inducing intermediaries, for which the pairs $\{x_{sr}, x_r\}$ and $\{x_{sm}, x_m\}$ obey equations with the same functional form as the pair $\{x_{sf}, x_f\}$ of the B-F model, thus requiring 4 dimensionful parameters: $\{\kappa_{sr}, \kappa_r, \kappa_{sm}, \kappa_m\}$. 2 more dimensionful parameters $\{k_1, k_2\}$, 8 dimensionless parameters $\{\beta, \delta, k_3, k_4, k_6, k_7, \varepsilon_r, \varepsilon_m\}$, for a total of 14 parameters, and two physical constants $\{k_A, k_B\}$, appear in the other 3 equations. The 7 equations are the following:

$$\begin{aligned} \dot{x}_{sr} &= -\varepsilon_r u(t) - \kappa_{sr} x_{sr} - \kappa_r (x_r - 1), & \dot{x}_r &= x_{sr} \\ \dot{x}_{sm} &= \varepsilon_m u(t) - \kappa_{sm} x_{sm} - \kappa_m (x_m - 1), & \dot{x}_m &= x_{sm} \\ \dot{x}_v &= k_2 (f_{\text{in}} - f_{\text{out}}), \\ \dot{x}_t &= k_1 (k_7 x_p - x_t - (k_7 - 1) x_m), \text{ and} \\ \dot{x}_p &= \frac{k_2 \left((f_{\text{in}} + f_{\text{out}} \frac{\delta}{1-\delta}) (k_5 - \mathcal{S} - k_4 x_p) - k_3 (k_7 x_p - x_t) \right)}{x_v \left((1 - \mathcal{S})^2 \left(\frac{3x_p^2 + k_B}{k_A} \right) + k_4 \right)}. \end{aligned} \quad (6.9)$$

The in and out flows $f_{\text{in}}, f_{\text{out}}$ and the oxygen saturation \mathcal{S} are algebraic functions of the state variables: $f_{\text{in}} = (1 + k_6(1 - x_v^\beta))/x_r$, $f_{\text{out}} = x_v^{\beta+2}$, and $\mathcal{S} = 1/(1 + k_A/(x_p^3 + k_B x_p))$ is an

empirical equation due to Severinghaus (1979) known as the dissociation curve of hemoglobin. The parameter k_5 is constrained: $k_5 = k_4 + (1 - \delta)(k_7 - 1)k_3 + 1/(1 + k_A/(1 + k_B))$. Expressions of parameters and their relations to physiological parameters are presented in the following derivation. The measurement model for the outputs $y = g(x)$ is:

$$\begin{aligned} y_{\text{CBF}} &= c_f \left(\frac{f_{in} + f_{out}}{2} - 1 \right), \quad y_{\text{HbT}} = c_v \left(1 + \frac{V_{a,0}}{V_{w,0}} \right)^{-1} (x_v - 1) \quad \text{and} \\ y_{\text{HbR}} &= c_q \left(1 + \frac{V_{a,0}}{V_{w,0}} \right)^{-1} \left(\frac{1 - \mathcal{S}_w}{1 - \mathcal{S}_{w,0}} x_v - 1 \right) \end{aligned}$$

These equations arise upon neglecting the contribution of arteriolar volume changes to the measures, an assumption that is coherent between the 3 models. However, recent data (Hillman et al., 2007) seriously challenges this assumption and suggests that in future work, the model could be refined in order to include the arteriolar contribution to measured volume changes.

6.9.3.1 Derivation of the Windkessel model: Arterial resistance and Windkessel volume

To bring the single-compartment Windkessel model to the above form, a few reparametrizations are necessary and we provide in this appendix the details of this derivation.

We start with a volume V_{tot} corresponding to an imaging voxel. In each such volume, several components contribute: 1- Arterial/arteriolar, 2- Windkessel (consisting of capillaries and veins), and 3- Brain tissue. We use the initial letter of the components as labels: ‘a’ for arteries, ‘w’ for Windkessel and ‘t’ for tissue. Thus $V_{tot} = V_a + V_w + V_t$ and the volume of the vasculature is $V_{vasc} = V_a + V_w$. The arterial component is assumed to be non-compliant and V_t is assumed constant; with V_t approximately 50 times larger than V_{vasc} , we neglect the changes in V_{tot} and V_t due to changes in V_{vasc} . Thus the Windkessel is the only compliant compartment.

Now we introduce a phenomenological description of blood flow from the arteries through this Windkessel, based on Poiseuille’s law. We assume two effective resistances, R_a and R_w , for the arterial and Windkessel. At the entrance of component a , there is constant pressure P_{in} . At the exit of a and the entrance to w , there is the Windkessel pressure P_w . At the exit of w , the pressure P_{out} is set to zero. Following Mandeville et al. (1999), Poiseuille’s law gives two relations $P_{in} - P_w = R_a F_{in}$ and $P_w - P_{out} = R_w F_{out}$ for the flows F_{in} and F_{out} in and out of the Windkessel. A proportionality known as the Windkessel relation (Mandeville et al., 1999) is assumed between P_w and V_w : $P_w \propto V_w^\beta$, so that $(P_w/P_{w,0})^{1/\beta} = V_w/V_{w,0} = x_v$ using the subscript 0 to denote initial or baseline values. Poiseuille’s law contains further information,

$R \propto V^{-2}$, beyond the linear relationship between pressure and flow used above, so that $R_w/R_{w,0} = x_v^{-2}$ and $V_a/V_{a,0} = x_r^{-1/2}$, introducing $x_r = R_a/R_{a,0}$. Also, under the assumption that the proportionality constant in $R \propto V^{-2}$ is the same for arteries and the Windkessel, we have an additional relation: $V_{a,0} = (R_{w,0}/R_{a,0})^{1/2}V_{w,0}$. Conservation of matter flowing in and out of the Windkessel leads to a dynamical equation for V_w : $\dot{V}_w = dV_w/dt = F_{in} - F_{out}$. Although several variables have been introduced so far, only two of them have independent temporal dynamics, which we take to be R_a and V_w . The dynamics of R_a is related to neuronal stimuli in the same manner as the flow in the B-F model (equations for $\{x_{sr}, x_r\}$) and will not be discussed further. In the steady state, $\dot{V}_w = 0$ and is used to write the equations for F_{in} and F_{out} in terms of the two independent variables as $F_{in} = \frac{F_{in,0}}{x_r} \left(1 + \frac{R_{w,0}}{R_{a,0}}(1 - x_v^\beta)\right)$ and $F_{out} = F_{in,0}x_v^{\beta+2}$. Thus we recover the equation for x_v for the Windkessel model upon setting $k_6 = \frac{R_{w,0}}{R_{a,0}}$ and $k_2 = F_{in,0}/V_{w,0}$. Note that parameter k_2 is analogous to τ^{-1} from the Buxton-Friston model.

6.9.3.2 Derivation of the Windkessel model: Oxygen transport

For the oxygen transport model, we will again introduce several variables; however, only 3 will be dynamical. We choose the dynamical variables to be the cerebral metabolic rate of oxygen, $M = \text{CMRO}_2$, the partial pressure of oxygen in the Windkessel P_{wO_2} and the partial pressure of oxygen in tissue P_{tO_2} . As before, we introduce normalized variables: $x_m = M/M_0$, $x_t = P_{tO_2}/P_{tO_2,0}$ and $x_p = P_{wO_2}/P_{wO_2,0}$. The CMRO_2 , like the arterial resistance, is paired with a stimulus-inducing signal x_{sm} so that $\{x_{sm}, x_m\}$ follow equations analogous to $\{x_{sf}, x_f\}$ in the B-F model. The dynamical equations for P_{tO_2} and P_{wO_2} come from mass conservation equations of the number of molecules of O_2 in tissue and the Windkessel, N_t and N_w : $\dot{N}_t = \dot{N}_w^{\text{extracted}} - \dot{N}_t^{\text{consumed}}$ and $\dot{N}_w = \dot{N}_w^{\text{in}} - \dot{N}_w^{\text{out}} - \dot{N}_w^{\text{extracted}}$. Metabolic consumption of oxygen takes place in tissue, so that $\dot{N}_t^{\text{consumed}} = \rho_b M V_t$, where ρ_b is the brain matter density. The amount of oxygen extracted from blood vessels is given by Fick's law of diffusion. It is proportional to the positive oxygen pressure gradient between vessels and tissue: $\dot{N}_w^{\text{extracted}} = K(P_{wO_2} - P_{tO_2})$, with K the diffusion constant. With the principles now stated, we want to reexpress the equations for \dot{N}_t and \dot{N}_w in terms of the pressures P_{wO_2} and P_{tO_2} , the volumes V_w , V_t , and M . This is possible because the oxygen pressures are related to oxygen concentrations.

In tissue, the oxygen concentration C_t is related to the number of molecules by $N_t = C_t V_t$ and to the oxygen partial pressure P_{tO_2} by $C_t = \omega \gamma_t P_{tO_2}$, where ω is a conversion factor to convert a volume of O_2 to an amount (moles) of O_2 and γ_t is the solubility of oxygen in tissue.

In the Windkessel, oxygen is mostly bound to hemoglobin with some dissolved in plasma. Thus the oxygen concentration C_w consists of two contributions, $C_w = C_b + C_d$: 1- The concen-

tration of oxygen bound to hemoglobin C_b is proportional to the O_2 saturation \mathcal{S} , $C_b = \lambda \mathcal{S}$, with $\lambda = \omega H_n HGB$, H_n a constant called the Hufner number and HGB the amount of hemoglobin per volume of blood. The saturation satisfies the dissociation curve relationship (Severinghaus, 1979): $\mathcal{S}^{-1} = 1 + A/(P^3 + BP)$, with constants $A = 23400 (mmHg)^3$ and $B = 150 (mmHg)^2$. 2- The concentration of oxygen dissolved C_d in plasma satisfies $C_d = \omega \gamma_p P_{wO_2}$. As a microscopic concentration with respect to the blood vessels, $C_w = N_w/V_w$. Also there is a concentration gradient of O_2 from the entry of the Windkessel to its exit. We can write $\dot{N}_w^{in} = F_{in} C_w^{in}$ and $\dot{N}_w^{out} = F_{out} C_w^{out}$ in terms of the variable concentration at exit C_w^{out} and the assumed constant concentration C_w^{in} at entry. To describe the average oxygen concentration in the Windkessel C_w in terms of C_w^{in} and C_w^{out} , we introduce a parameter δ : $C_w = \delta C_w^{in} + (1 - \delta) C_w^{out}$. Thus a small value for δ reflects an oxygen concentration in the Windkessel mostly from the venous outgoing part.

Briefly returning to the tissue component to complete the derivation of the equation for x_t , we have $\dot{N}_t = K(P_{wO_2} - P_{tO_2}) - \rho_b M V_t$. In the steady state, $K(P_{wO_2,0} - P_{tO_2,0}) = \rho_b M_0 V_t$. Defining $k_7 = P_{wO_2,0}/P_{tO_2,0}$ and upon using $N_t = \omega \gamma_t P_{tO_2} V_t$, we get

$$\dot{x}_t = \frac{\rho_b M_0}{\omega \gamma_t P_{tO_2,0}} \left(\frac{k_7 x_p - x_t}{k_7 - 1} - m \right). \quad (6.10)$$

Upon setting $k_1 = \rho_b M_0 / ((k_7 - 1) \omega \gamma_p P_{tO_2,0})$, this takes the form given earlier for \dot{x}_t .

The equation for x_p is a bit more laborious to derive. Starting from $N_w = C_w V_w$ and the mass conservation equation, we have $V_w \dot{C}_w + C_w \dot{V}_w = F_{in} C_w^{in} - F_{out} C_w^{out} - K(P_{wO_2} - P_{tO_2})$. Removing the dependence on C_w^{out} by solving for it in terms of C_w , recalling that C_w^{in} is a constant equal to the arterial concentration of O_2 , given by $C_a = \lambda \mathcal{S}_a + \omega \gamma_p P_{aO_2}$ in terms of the arterial oxygen saturation \mathcal{S}_a and arterial oxygen pressure P_{aO_2} , and using $\dot{V}_w = F_{in} - F_{out}$, we obtain $V_w \dot{C}_w = (F_{in} + F_{out} \frac{\delta}{1-\delta})(C_a - C_w) - K(P_{wO_2} - P_{tO_2})$. The derivative \dot{C}_w can be expressed in terms of the pressure P_{wO_2} only, by time derivation of the dissociation curve equation, resulting in :

$$\begin{aligned} \dot{C}_w &= \left(\omega \gamma_p + \lambda \left(\frac{A}{P_{wO}^3 + B P_{wO_2}} + 1 \right)^{-2} \left(\frac{A(3P^2 + B)}{(P_{wO_2}^3 + B P_{wO_2})^2} \right) \right) \dot{P}_{wO_2} \\ &= \left(\omega \gamma_p + \lambda (1 - \mathcal{S}_w)^2 \left(\frac{3x_p^2 + k_B}{k_A P_{wO_2,0}} \right) \right) P_{wO_2,0} \dot{x}_p \end{aligned} \quad (6.11)$$

with the dimensionless constants $k_A = A/P_{wO_2,0}^3$ and $k_B = B/P_{wO_2,0}^2$.

We introduce a dimensionless parameter $k_4 = \omega \gamma_p P_{wO_2,0} / \lambda$. In the steady state, $\dot{x}_p = 0$ implies a constraint on the parameters $C_a = C_{w,0} - (1 - \delta) \frac{\rho_b M_0 V_t}{F_{in,0}}$. Given $k_5 = C_a / \lambda$ and

$C_{w,0} = k_4 + 1/(1 + k_A/(1 + k_B))$, we get the constrained equation for k_5 presented in the last section. Rewriting the equation for \dot{x}_p in terms of normalized variables, we get:

$$\begin{aligned} \dot{x}_p &= V_w^{-1} \left(\omega \gamma_p P_{wO2,0} + \lambda (1 - \mathcal{S})^2 \left(\frac{3x_p^2 + k_B}{k_A} \right) \right)^{-1} \times \\ &\quad \left(\left(F_{in} + F_{out} \frac{\delta}{1 - \delta} \right) (C_a - C_w) - K(P_{wO2} - P_{tO2}) \right) \\ &= \frac{k_2 \left(\left(f_{in} + f_{out} \frac{\delta}{1 - \delta} \right) (C_a/\lambda - \mathcal{S} - k_4 x_p) - \frac{\rho_b M_0 V_t}{\lambda F_{in,0}(k_7 - 1)} (k_7 x_p - x_t) \right)}{x_v \left((1 - \mathcal{S})^2 \left(\frac{3x_p^2 + k_B}{k_A} \right) + k_4 \right)} \end{aligned} \quad (6.12)$$

which has the form given earlier for x_p upon defining the dimensionless parameter $k_3 = \frac{\rho_b M_0 V_t}{\lambda F_{in,0}(k_7 - 1)}$.

For completeness we provide two tables: a list of the values and units for the constants (Table 6.4) and the variables (Table 6.5) used in the derivations above.

Table 6.4: Constants and units used in the derivations above.

			List of physical constants
Label	Units	Value	Name, details
A	$(mm\ Hg)^3$	23400	Constant in dissociation curve
B	$(mm\ Hg)^2$	150	Constant in dissociation curve
H_n	$mL\ O_2/g_{Hb}$	1.39	Hüfner constant
ω	$\mu mol\ O_2/mL\ O_2$	44.6	Conversion factor (from ideal gas law)
$\gamma_p = \gamma_t$	$mL\ O_2/mm\ Hg\ mL_{blood}$	$3.9 \cdot 10^{-5}$	Solubilities of O_2 in plasma and tissue
ρ_b	g/mL_{brain}	1.04	Density of brain matter

Table 6.5: Definitions of the physiological parameters that were not optimized with their units and values. The sign # indicate that these values were not fixed but derived from previously defined parameters. The values were taken from Huppert et al. (2007), except for the solubilities γ_p and γ_t , which were both approximated by the solubility of O_2 in water due to sparse and discordant literature values.

		Inputs	Physiological constants
Label	Units	Value	Name, details
V_{tot}	mL_{brain}	1	Arbitrary choice
V_{vasc}/V_{tot}	None	5.17%	Vascular volume fraction
V_t	mL_{brain}	0.9483	Tissue volume
$V_{a,0}$	mL_{brain}	0.013	Baseline arterial volume ($= 0.25 \cdot V_{vasc}$)
$V_{w,0}$	mL_{brain}	0.039	Baseline Winkessel volume ($= 0.75 \cdot V_{vasc}$)
$\frac{R_{w,0}}{R_{a,0} + R_{w,0}}$	None	0.3	Baseline fraction of resistance from Windkessel
$R_{w,0}$	$mm\ Hg\ s/mL$	$2.53 \cdot 10^3$	Baseline Windkessel resistance.
HbT_0	$\mu mol/mL_{brain}$	0.107	Baseline total hemoglobin concentration
HGB	g_{Hb}/mL_{blood}	0.16	Hemoglobin content of blood
P_{aO_2}	$mm\ Hg$	75	Arteriolar O_2 pressure
$P_{tO_2,0}$	$mm\ Hg$	16	Baseline tissue O_2 pressure
$S_{wO_2,0}$	None	82.6%	Baseline O_2 saturation in Windkessel [#]
S_{aO_2}	None	95%	O_2 saturation of arterial blood [#]
$C_{w,0}$	$\mu mol/mL_{blood}$	8.27	Baseline Winkessel concentration of O_2 [#]
C_a	$\mu mol/mL_{blood}$	9.56	Arterial concentration of O_2 [#]
c_v	None	1	HbT model to outputs gain
c_f	None	0.61	CBF model to outputs gain
c_q	None	1.8	HbR model to outputs gain

Bibliography

- Aizenstein, H. J., Clark, K. A., Butters, M. A., Cochran, J., Stenger, V. A., Meltzer, C. C., Reynolds, C. F., Carter, C. S., 2004. The bold hemodynamic response in healthy aging. *Journal of Cognitive Neuroscience* 16 (5), 786–793.
- Alliot, J., Boghossian, S., Jourdan, D., Veyrat-Durebex, C., Pickering, G., Meynial-Denis, D., Gaumet, N., 2002. The lou/c/jall rat as an animal model of healthy aging? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57 (8), B312–20.
- Ances, B. M., Liang, C. L., Leontiev, O., Perthen, J. E., Fleisher, A. S., Lansing, A. E., Buxton, R. B., 2009. Effects of aging on cerebral blood flow, oxygen metabolism, and blood oxygenation level dependent responses to visual stimulation. *Hum Brain Mapp* 30 (4), 1120–32.
- Asslani, I., Habeck, C., Borogovac, A., Brown, T. R., Brickman, A. M., Stern, Y., 2009. Separating function from structure in perfusion imaging of the aging brain. *Human Brain Mapping* 30 (9), 2927–2935.
- Aubert, A., Costalat, R., Valabregue, R., 2001. Modelling of the coupling between brain electrical activity and metabolism. *Acta Biotheoretica* 49 (4), 301–326.
- Behzadi, Y., Liu, T. T., 2005. An arteriolar compliance model of the cerebral blood flow response to neural stimulus. *Neuroimage* 25 (4), 1100–11.
- Bentourkia, M., Bol, A., Ivanoiu, A., Labar, D., Sibomana, M., Coppens, A., Michel, C., Cosnard, G., De Volder, A. G., 2000. Comparison of regional cerebral blood flow and glucose metabolism in the normal brain: effect of aging. *Journal of the Neurological Sciences* 181 (1–2), 19–28.
- Biagi, L., Abbruzzese, A., Bianchi, M. C., Alsop, D. C., Del Guerra, A., Tosetti, M., 2007. Age dependence of cerebral perfusion assessed by magnetic resonance continuous arterial spin labeling. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI* 25 (4), 696–702.
- Boas, D. A., Jones, S. R., Devor, A., Huppert, T. J., Dale, A. M., 2008. A vascular anatomical network model of the spatio-temporal response to brain activation. *NeuroImage* 40 (3), 1116–1129.
- Boas, D. A., Strangman, G., Culver, J. P., Hoge, R. D., Jaszewski, G., Poldrack, R. A., Rosen, B. R., Mandeville, J. B., 2003. Can the cerebral metabolic rate of oxygen be estimated with near-infrared spectroscopy? *Physics in Medicine and Biology* 48 (15), 2405–2418.
- Briers, J. D., 2001. Laser doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas* 22 (4), R35–66.

- Briers, J. D., Richards, G., He, X. W., 1999. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (lasca). *Journal of Biomedical Optics* 4 (1), 164–164.
- Burns, A., Tyrrell, P., 1992. Association of age with regional cerebral oxygen utilization: a positron emission tomography study. *Age and Ageing* 21 (5), 316–320.
- Buxton, R. B., Frank, L. R., 1997. A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 17 (1), 64–72.
- Buxton, R. B., Uludag, K., Dubowitz, D. J., Liu, T. T., 2004. Modeling the hemodynamic response to brain activation. *NeuroImage* 23 Suppl 1, S220–233–S220–233.
- Buxton, R. B., Wong, E. C., Frank, L. R., 1998. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn Reson Med* 39 (6), 855–64.
- Culver, J. P., Durduran, T., Furuya, D., Cheung, C., Greenberg, J. H., Yodh, A. G., 2003. Diffuse optical tomography of cerebral blood flow, oxygenation, and metabolism in rat during focal ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 23 (8), 911–924.
- Deneux, T., Faugeras, O., 2006. Using nonlinear models in fmri data analysis: model selection and activation detection. *NeuroImage* 32 (4), 1669–1689.
- D’Esposito, M., Deouell, L. Y., Gazzaley, A., 2003. Alterations in the bold fmri signal with ageing and disease: a challenge for neuroimaging. *Nat Rev Neurosci* 4 (11), 863–72.
- Devor, A., Dunn, A. K., Andermann, M. L., Ulbert, I., Boas, D. A., Dale, A. M., 2003. Coupling of total hemoglobin concentration, oxygenation, and neural activity in rat somatosensory cortex. *Neuron* 39 (2), 353–9.
- Devor, A., Hillman, E. M., Tian, P., Waeber, C., Teng, I. C., Ruvinskaya, L., Shalinsky, M. H., Zhu, H., Haslinger, R. H., Narayanan, S. N., Ulbert, I., Dunn, A. K., Lo, E. H., Rosen, B. R., Dale, A. M., Kleinfeld, D., Boas, D. A., 2008. Stimulus-induced changes in blood flow and 2-deoxyglucose uptake dissociate in ipsilateral somatosensory cortex. *J Neurosci* 28 (53), 14347–57.
- Dubeau, S., Ferland, G., Gaudreau, P., Beaumont, E., Lesage, F., 2011. Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the lou/c rat: A model of healthy aging. *NeuroImage* 56 (4), 1892–1901.
- Duncan, A., Meek, J. H., Clemence, M., Elwell, C. E., Fallon, P., Tyszczuk, L., Cope, M., Delpy, D. T., 1996. Measurement of cranial optical path length as a function of age using phase resolved near infrared spectroscopy. *Pediatric Research* 39 (5), 889–894.
- Duncan, D. D., Kirkpatrick, S. J., 2008. Can laser speckle flowmetry be made a quantitative tool? *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 25 (8), 2088–94.

- Dunn, A. K., Bolay, H., Moskowitz, M. A., Boas, D. A., 2001. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab* 21 (3), 195–201.
- Dunn, A. K., Devor, A., Bolay, H., Andermann, M. L., Moskowitz, M. A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2003. Simultaneous imaging of total cerebral hemoglobin concentration, oxygenation, and blood flow during functional activation. *Opt Lett* 28 (1), 28–30.
- Dunn, A. K., Devor, A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2005. Spatial extent of oxygen metabolism and hemodynamic changes during functional activation of the rat somatosensory cortex. *Neuroimage* 27 (2), 279–90.
- Duque, G., Rivas, D., Li, W., Li, A., Henderson, J. E., Ferland, G., Gaudreau, P., 2009. Age-related bone loss in the lou/c rat model of healthy ageing. *Exp Gerontol* 44 (3), 183–9.
- Durduran, T., Yu, G., Burnett, M. G., Detre, J. A., Greenberg, J. H., Wang, J., Zhou, C., Yodh, A. G., 2004. Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation. *Optics Letters* 29 (15), 1766–1768.
- Eppinger, B., Kray, J., Mecklinger, A., John, O., 2007. Age differences in task switching and response monitoring: evidence from erps. *Biological Psychology* 75 (1), 52–67.
- Fang, Q., Sakadzic, S., Ruvinskaya, L., Devor, A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2008. Oxygen advection and diffusion in a three- dimensional vascular anatomical network. *Optics Express* 16 (22), 17530–17541.
- Fladby, T., Bryhn, G., Halvorsen, O., Rose, I., Wahlund, M., Wiig, P., Wetterberg, L., 2004. Olfactory response in the temporal cortex of the elderly measured with near-infrared spectroscopy: a preliminary feasibility study. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 24 (6), 677–680.
- Fox, P. T., Raichle, M. E., 1986. Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83 (4), 1140–4.
- Friston, K., 2000. Nonlinear responses in fmri: The balloon model, volterra kernels, and other hemodynamics. *NeuroImage* 12 (4), 466–477.
- Friston, K. J., 2002. Bayesian estimation of dynamical systems: an application to fmri. *NeuroImage* 16 (2), 513–530.
- Gatto, R., Hoffman, W. E., Mueller, M., Paisansathan, C., Charbel, F., 2007. Age effects on brain oxygenation during hypercapnia. *J Biomed Opt* 12 (6), 62113.

- Grubb, R. L., J., Raichle, M. E., Eichling, J. O., Ter-Pogossian, M. M., 1974. The effects of changes in $paco_2$ on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time. *Stroke* 5 (5), 630–9.
- Hajdu, M. A., Heistad, D. D., Siems, J. E., Baumbach, G. L., 1990. Effects of aging on mechanics and composition of cerebral arterioles in rats. *Circulation Research* 66 (6), 1747–1754.
- Hashimoto, J., Ito, S., 2009. Some mechanical aspects of arterial aging: physiological overview based on pulse wave analysis. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease* 3 (5), 367–378.
- Henry-Feugeas, M. C., Onen, F., Claeys, E. S., 2008. Classifying late-onset dementia with mri: is arteriosclerotic brain degeneration the most common cause of alzheimer’s syndrome? *Clinical Interventions in Aging* 3 (1), 187–199.
- Herrmann, M. J., Walter, A., Ehli, A. C., Fallgatter, A. J., 2006. Cerebral oxygenation changes in the prefrontal cortex: effects of age and gender. *Neurobiology of Aging* 27 (6), 888–894.
- Hillman, E. M., Devor, A., Bouchard, M. B., Dunn, A. K., Krauss, G. W., Skoch, J., Bacska, B. J., Dale, A. M., Boas, D. A., 2007. Depth-resolved optical imaging and microscopy of vascular compartment dynamics during somatosensory stimulation. *Neuroimage* 35 (1), 89–104.
- Huppert, T. J., Allen, M. S., Benav, H., Jones, P. B., Boas, D. A., 2007. A multicompartiment vascular model for inferring baseline and functional changes in cerebral oxygen metabolism and arterial dilation. *J Cereb Blood Flow Metab* 27 (6), 1262–79.
- Huppert, T. J., Jones, P. B., Devor, A., Dunn, A. K., Teng, I. C., Dale, A. M., Boas, D. A., 2009. Sensitivity of neural-hemodynamic coupling to alterations in cerebral blood flow during hypercapnia. *Journal of Biomedical Optics* 14 (4), 044038–044038.
- Jones, M., Berwick, J., Johnston, D., Mayhew, J., 2001. Concurrent optical imaging spectroscopy and laser-doppler flowmetry: the relationship between blood flow, oxygenation, and volume in rodent barrel cortex. *Neuroimage* 13 (6 Pt 1), 1002–15.
- Kalaria, R. N., 1996. Cerebral vessels in ageing and alzheimer’s disease. *Pharmacology and Therapeutics* 72 (3), 193–214.
- Kappeler, L., Zizzari, P., Alliot, J., Epelbaum, J., Bluett-Pajot, M.-T., 2004. Delayed age-associated decrease in growth hormone pulsatile secretion and increased orexigenic peptide expression in the *lou c/jall* rat. *Neuroendocrinology* 80 (5), 273–283.

- Kohl, M., Lindauer, U., Royl, G., Kuhl, M., Gold, L., Villringer, A., Dirnagl, U., 2000. Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals. *Phys Med Biol* 45 (12), 3749–64.
- Kollen, M., Stephan, A., Faivre-Bauman, A., Loudes, C., Sinet, P. M., Alliot, J., Billard, J. M., Epelbaum, J., Dutar, P., Jouvenceau, A., 2010. Preserved memory capacities in aged lou/c/jall rats. *Neurobiology of Aging* 31 (1), 129–142.
- Langenecker, S. A., Nielson, K. A., Rao, S. M., 2004. fmri of healthy older adults during stroop interference. *NeuroImage* 21 (1), 192–200.
- Leenders, K. L., Perani, D., Lammertsma, A. A., Heather, J. D., Buckingham, P., Healy, M. J., Gibbs, J. M., Wise, R. J., Hatazawa, J., Herold, S., 1990. Cerebral blood flow, blood volume and oxygen utilization. normal values and effect of age. *Brain: A Journal of Neurology* 113 (Pt 1), 27–47.
- Leung, T. S., Tachtsidis, I., Tisdall, M. M., Pritchard, C., Smith, M., Elwell, C. E., 2009. Estimating a modified grubb's exponent in healthy human brains with near infrared spectroscopy and transcranial doppler. *Physiological Measurement* 30 (1), 1–12.
- Mandeville, J. B., Marota, J. J., Ayata, C., Zaharchuk, G., Moskowitz, M. A., Rosen, B. R., Weisskoff, R. M., 1999. Evidence of a cerebrovascular postarteriole windkessel with delayed compliance. *J Cereb Blood Flow Metab* 19 (6), 679–89.
- Mehagnoul-Schipper, D. J., van der Kallen, B. F. W., Colier, W. N. J. M., van der Sluijs, M. C., van Erning, L. J. T. O., Thijssen, H. O. M., Oeseburg, B., Hoefnagels, W. H. L., Jansen, R. W. M. M., 2002. Simultaneous measurements of cerebral oxygenation changes during brain activation by near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging in healthy young and elderly subjects. *Human Brain Mapping* 16 (1), 14–23.
- Mesquita, R. C., Huppert, T. J., Boas, D. A., 2009. Exploring neuro-vascular and neuro-metabolic coupling in rat somatosensory cortex. *Physics in Medicine and Biology* 54 (2), 175–185.
- Mildner, T., Norris, D. G., Schwarzbauer, C., Wiggins, C. J., 2001. A qualitative test of the balloon model for bold-based mr signal changes at 3t. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 46 (5), 891–899.
- Obata, T., Liu, T. T., Miller, K. L., Luh, W. M., Wong, E. C., Frank, L. R., Buxton, R. B., 2004. Discrepancies between bold and flow dynamics in primary and supplementary motor areas: application of the balloon model to the interpretation of bold transients. *NeuroImage* 21 (1), 144–153.

- Parkes, L. M., Rashid, W., Chard, D. T., Tofts, P. S., 2004. Normal cerebral perfusion measurements using arterial spin labeling: reproducibility, stability, and age and gender effects. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 51 (4), 736–743.
- Restom, K., Bangen, K. J., Bondi, M. W., Perthen, J. E., Liu, T. T., 2007. Cerebral blood flow and bold responses to a memory encoding task: a comparison between healthy young and elderly adults. *NeuroImage* 37 (2), 430–439.
- Riddle, D. R., Sonntag, W. E., Lichtenwalner, R. J., 2003. Microvascular plasticity in aging. *Ageing Res Rev* 2 (2), 149–68.
- Severinghaus, J. W., 1979. Simple, accurate equations for human blood o₂ dissociation computations. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 46 (3), 599–602.
- Slosman, D. O., Chicherio, C., Ludwig, C., Genton, L., de Ribaupierre, S., Hans, D., Pichard, C., Mayer, E., Annoni, J. M., de Ribaupierre, A., 2001. (133)xe spect cerebral blood flow study in a healthy population: determination of t-scores. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine* 42 (6), 864–870.
- Stoquart-ElSankari, S., Baledent, O., Gondry-Jouet, C., Makki, M., Godefroy, O., Meyer, M.-E., 2007. Aging effects on cerebral blood and cerebrospinal fluid flows. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 27 (9), 1563–1572.
- Takada, H., Nagata, K., Hirata, Y., Satoh, Y., Watahiki, Y., Sugawara, J., Yokoyama, E., Kondoh, Y., Shishido, F., Inugami, A., 1992. Age-related decline of cerebral oxygen metabolism in normal population detected with positron emission tomography. *Neurological Research* 14 (2 Suppl), 128–131.
- Tang, L., Avison, M. J., Gore, J. C., 2009. Nonlinear blood oxygen level-dependent responses for transient activations and deactivations in v1 - insights into the hemodynamic response function with the balloon model. *Magnetic Resonance Imaging* 27 (4), 449–459.
- Tumeh, P. C., Alavi, A., Houseni, M., Greenfield, A., Chryssikos, T., Newberg, A., Torigian, D. A., Moonis, G., 2007. Structural and functional imaging correlates for age-related changes in the brain. *Seminars in Nuclear Medicine* 37 (2), 69–87.
- Vanzetta, I., Grinvald, A., 2008. Coupling between neuronal activity and microcirculation: implications for functional brain imaging. *HFSP Journal* 2 (2), 79–98.
- Veyrat-Durebex, C., Alliot, J., Gaudreau, P., 2005. Regulation of the pituitary growth hormone-releasing hormone receptor in ageing male and female lou rats: new insights into healthy ageing. *Journal of Neuroendocrinology* 17 (11), 691–700.

- Wang, M., Monticone, R. E., Lakatta, E. G., 2010. Arterial aging: a journey into subclinical arterial disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 19 (2), 201–207.
- Zhang, Y., Peng, Y.-y., Chen, G.-y., Chen, W.-f., 2010. Cerebral blood flow, cerebral blood volume, oxygen utilization and oxygen extraction fraction: the influence of age,[en chinois]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao = Journal of Southern Medical University* 30 (6), 1237–1239.
- Zheng, Y., Johnston, D., Berwick, J., Chen, D., Billings, S., Mayhew, J., 2005. A three-compartment model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *NeuroImage* 28 (4), 925–939.
- Zheng, Y., Martindale, J., Johnston, D., Jones, M., Berwick, J., Mayhew, J., 2002. A model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *NeuroImage* 16 (3 Pt 1), 617–637.
- Zheng, Y., Mayhew, J., 2009. A time-invariant visco-elastic windkessel model relating blood flow and blood volume. *NeuroImage* 47 (4), 1371–1380.
- Zheng, Y., Pan, Y., Harris, S., Billings, S., Coca, D., Berwick, J., Jones, M., Kennerley, A., Johnston, D., Martin, C., 2010. A dynamic model of neurovascular coupling: Implications for blood vessel dilation and constriction. *NeuroImage* 52 (3), 1135–1147.
- Zysset, S., Schroeter, M. L., Neumann, J., Yves von Cramon, D., 2006. Stroop interference, hemodynamic response and aging: An event-related fmri study. *Neurobiology of Aging*.

CHAPITRE 7

La deconvolution neurovasculaire reflète-t-elle vraiment l'activité neuronale ?

7.1 Présentation de l'article

Cet article a été soumis à NeuroImage le 12 août 2011. Au cours des dernières années, de nombreuses études ont permis de faire le lien entre l'activité neuronale induite par différentes stimulations et la réponse hémodynamique. Plus récemment, une attention particulière a été portée à l'étude de l'activité neuronale spontanée enregistrée sur des modèles au repos. Dans le cadre des travaux sur les rats LOU, certains arbitres ont mentionné que les articles étudient le couplage entre les stimulations et la réponse hémodynamique mais n'étudie pas les changements d'activité neuronale au cours du vieillissement. Les changements d'activité neuronale n'ont pas été étudiés puisque, dans le cadre d'activité neuronale stimulé, les résultats doivent être normalisées pour chaque rat il, ce qui rend difficile la comparaison entre animaux. Par contre, il est possible de comparer les résultats de l'activité neuronale stimulée à l'activité neuronale spontanée (au repos) et aussi d'observer le couplage neurovasculaire dans ces deux situations. Malheureusement, l'activité neuronale spontanée produit habituellement des réponses de plus faible amplitude et plus difficiles à analyser que les données sous stimulation. De plus, la preuve n'a pas été faite que, pour l'activité neuronale au repos, l'analyse de la réponse hémodynamique est un bon indicateur de l'activité neuronale. Le présent article propose donc un cadre méthodologique pour pouvoir étudier l'activité neuronale au repos et le couplage neurovasculaire associé.

Plus précisément, l'article utilise un modèle déconvolution de la réponse hémodynamique (SCKS) qui a montré une très bonne performance théorique pour déconvoluer des données neurovasculaires. Les analyses tentent de déterminer si les mesures d'activité neuronale extraites par SCKS corrélerent avec les mesures d'activité neuronale locale mesurée à l'aide d'une électrode implantée dans le cerveau. D'une part, les résultats montrent que l'algorithme SCKS permet de retrouver l'activité neuronale avec une précision d'environ 1.6 s, ce qui permet d'étudier la corrélation entre l'activité neuronale et l'activité neuronale reconstruite. Nos résultats montrent que les mesures d'activité neuronale sous stimulation corrélerent bien avec l'activité électrique mesurée. Ces résultats sont meilleurs pour les courtes stimulations ou pour le début de longues stimulations que pour les longues stimulations où se produit une habitude et une diminution de la réponse hémodynamique et neuronale. En dehors des stimulations, l'algorithme SCKS trouve aussi une corrélation significative avec l'activité

neuronale électrique. Par contre, cette corrélation est beaucoup plus faible que sous stimulation. On observe aussi que l'activité neuronale reconstruite du même côté que l'activité électrophysiologique corrèle mieux que l'activité de l'autre côté, ce qui confirme que SCKS retrouve une mesure locale de la réponse hémodynamique. Par contre, l'activité neuronale reconstruite semble toujours corrélée avec l'activité de l'autre côté du cerveau, ce qui semble confirmer le couplage neuronal entre les deux hémisphères.

Enfin, divers paramètres ont été modifiés afin de déterminer la meilleure méthode de reconstruction de l'activité neuronale. L'utilisation d'un modèle linéaire généralisé pour réduire l'effet du bruit physiologique sur la réponse hémodynamique, n'a pas permis d'augmenter significativement l'activité neuronale reconstruite et semble avoir eu un effet néfaste sur la reconstruction. L'utilisation de paramètres individualisés de la réponse hémodynamique améliore significativement l'activité neuronale reconstruite. De plus, le débit donne des mesures très bruitées, par contre l'algorithme SCKS prend en compte des mesures de bruit différentes pour chaque modalité d'imagerie et l'ajout de la mesure de débit semble améliorer légèrement la reconstruction de l'activité neuronale.

7.2 Does neurovascular deconvolution reflect the true neuronal inputs?

S. Dubeau^a, M. Havlicek^{b,c,d}, E. Beaumont^e, G. Ferland^f, F. Lesage^{a,g}, P. Pouliot^{a,g}

^aDept. of electrical engineering, École Polytechnique de Montréal, C.P. 6079, Succ. Centre-ville, Montréal, Qc, Canada H3C 3A7l

^bDepartment of Biomedical Engineering, Brno University of Technology, Brno, Czech Republic

^cThe Mind Research Network, Albuquerque, NM, USA

^dDepartment of Electrical and Computer Engineering, University of NM, USA

^eDept. of surgery, Université de Montréal

^fDept. of nutrition, Université de Montréal

^gResearch center, Montreal Heart Institute

Keywords: SCKS deconvolution, biophysical models, intrinsic optical imaging, Bayesian statistical methods

7.3 Résumé du filtre de Kalman

Dans cet article nous avons utilisé l'algorithme SCKS de Martin Havlicek pour effectuer la déconvolution de la réponse hémodynamique. L'algorithme fait l'implémentation d'un filtre

de Kalman pour obtenir un estimé de l'activité neuronale à partir des mesures de l'activité hémodynamique. Comme la thèse étudie les effets du vieillissement, et que cet article étudie les performances de l'algorithme, la théorie derrière l'algorithme ne sera pas développée. Pour plus de détails, le lecteur est encouragé à s'attarder sur l'annexe de l'article et à consulter des articles sur SCKS et les filtres de Kalman (Arasaratnam and Haykin, 2009; Havlicek et al., 2010, 2011).

En bref, dans l'article #2, à partir d'une variable d'entrée $u(t)$ (les stimulations électriques ou l'activité neuronale), des modèles biophysiques ont permis de retrouver les états $x(t)$ les mesures $y(t)$. Les différents paramètres (compliance, volume, etc.) ont été optimisés afin que les mesures s'approchent des mesures expérimentales (HbR, HbT, DSC). L'algorithme SCKS utilise les mêmes modèles biophysiques que l'article #2 mais utilise les courbes (HbR, HbO et DSC) sur tous le décours temporel et non sur les données moyennées.

Le filtre de Kalman est un algorithme Bayésien récursif qui permet d'obtenir une mesure des entrées et des états simplement à partir des mesures expérimentales et d'un modèle biophysique adéquat. Dans le filtre de Kalman, les variables d'entrée $u(t)$, les états $x(t)$ et les mesures $y(t)$ sont considérées comme des variables gaussiennes et il peut être simplifié en deux étapes :

1. À partir, des données du système $u(t), x(t)$ et $y(t)$ au temps présent, on effectue une prédiction au temps futur des états $\hat{u}(t+1)$, des mesures $\hat{y}(t+1)$.
2. On compare les mesures prédites $\hat{y}(t+1)$ aux mesures expérimentales $\hat{y}(t+1)$, ce qui permet de faire une correction de données au temps future $\hat{x}(t+1)$, $\hat{y}(t+1)$, $\hat{u}(t+1)$ ainsi que de leur matrices de covariances respectives.
3. Le même procédé est ensuite appliqué au temps $t+2$.

Dans l'algorithme SCKS, après avoir trouvé les états pour toute la durée de l'enregistrement l'aide d'un filtre de Kalman, une approximation de Robbins-Monro est utilisée pour adoucir les données et réduire l'Effet du filtre de Kalman qui a pour effet de produire un décalage temporel. Ainsi, à partir des états au temps $t+1$, on retrouve les états au temps t .

À partir de ces nouvelles données, le filtre de Kalman et l'approximation de Robbins-Monro sont effectués de nouveau pour améliorer la précision de l'approximation. L'algorithme est arrêté lorsque la log évidence change de moins de 0.001 entre deux itérations.

7.4 abstract

Since the celebrated Kalman filter and Monte Carlo techniques, much theoretical work has been put into the development of signal deconvolution tools. Among recent developments taking place in neuroscience are Dynamic Expectation Maximization (DEM), Generalized

Filtering and the Cubature Kalman Filter (CKF). While there are exciting prospects to use these tools for Dynamic Causal Modeling (DCMs) and other analyses of networks, there has been comparatively little work to validate the algorithms on controlled experimental data. In this work, the latest evolution of these tools, the square-root cubature Kalman smoother (SCKS), is tested for its effectiveness on multimodal neurovascular data. Multispectral intrinsic optical imaging and electrophysiological measurements of Wistar rats are used in combination with somatosensory stimulation. The Buxton-Friston (B-F) balloon model is then deconvolved with the SCKS algorithm to obtain the estimated neuronal inputs $u(t)$ from the hemodynamic measurements (flow, oxy- and deoxygenated hemoglobin).

Results: The estimated neuronal inputs are compared to the stimulation protocol and a sensitivity and specificity analysis is carried out. SCKS succeeds in recovering most of the stimulations. Next, the estimated inputs are compared to actual measures of neuronal activity: local field potentials (LFPs) and multiunit activity (MUA). Good sensitivity of the technique is obtained with both LFPs and MUA over the whole recordings, with the area of the ROC curves favoring LFPs. A weak but significant correlation between SCKS estimated inputs and LFPs is found outside the stimulation periods. Finally, the accuracy of state reconstructions is studied and SCKS reconstructed states are highly concordant with measured states.

7.5 Introduction

Functional magnetic resonance imaging (fMRI) offers the opportunity to study the whole brain dynamically (Friston et al., 2007). Hemodynamic brain networks and interaction over spatially distributed areas can be studied noninvasively with fMRI. The ability to translate these observations into brain function relies on the understanding of the relationship between neuronal activation, metabolism and the measured hemodynamic response. However, the dependence of the Blood Oxygen Level Dependent (BOLD) signal on changes in perfusion, total blood volume as well as metabolism renders its direct interpretation in terms of neuronal activity difficult (Logothetis, 2003).

To better understand the coupling between hemodynamics and neuronal input several investigators have developed techniques to acquire simultaneous measures of neural activity. In rats, Mathiesen et al. (1998) acquired simultaneous optical measures and electrophysiology (local field potentials (LFPs) and multi unit activity (MUA)) and showed a correlation between laser Doppler increases in blood flow and neuronal activity. Logothetis and colleagues measured the BOLD signal simultaneously with electrophysiology in monkeys in various configurations (Logothetis et al., 1999) and confirmed concomitant increase in BOLD signal and

local neuronal activity. The BOLD signal was found to be linear but not a time invariant function of LFPs and MUA. These results were further extended to using LFPs and MUA as predictors of the BOLD response (Logothetis, 2002) using linear convolution models. It was shown in that work that as the stimulation duration was increased, the linear convolution model displayed an increasing discrepancy with measured data. Both LFPs and MUA were shown to be predictors of the BOLD signal with LFPs having a slight edge in prediction ability.

Insight gained from the above studies has been complemented by observations of the space and time course of the BOLD signal over a wide range of stimulations. Delayed onset (Kwong et al., 1992) due to blood flow and vascular architecture, and delayed post-stimulus undershoot (Buxton et al., 1998; Logothetis et al., 1999) have formed a basis for a biophysical understanding of the hemodynamic changes. It is now believed that blood flow overcompensates local oxygen consumption leading to the observed increase in the BOLD signal (Fox and Raichle, 1986; Fox et al., 1988). These observations led to the development of biophysically plausible models of the response relating initial neuronal activation and observations based on a complex electro/bio-physiological process. Over the years several contributions have been made to the modelization of neural, metabolic and vascular couplings and their effect on measured functional signals (Mandeville et al., 1999; Buxton et al., 2004; Zheng and Mayhew, 2009; Huppert et al., 2007; Friston, 2000; Boas et al., 2008; Behzadi and Liu, 2005; Aubert et al., 2001; Zheng et al., 2002, 2010). In these models the hemodynamic process is driven mathematically from neuronal inputs believed to convey post-synaptic activity (Friston, 2000). However the link between measures provided by neuroimaging and the underlying neuronal signal remains elusive. Moreover, while these models carry additional non-linearities, evidence using optical measures (Zheng et al., 2010) has emerged that the non-linearities initially found between linear convolution models and hemodynamic BOLD signal are still not fully accounted for.

The models above, mostly the Buxton-Friston version, led to attempts at identifying neuronal inputs from hemodynamic data to study brain networks using dynamical causal models (DCM). This in turn led to increased interest in the development of BOLD signal deconvolution techniques (Friston et al., 2008, 2010). Inversion of biophysical models yields estimations of hidden variables, for instance the neuronal inputs, and given the difficulties in acquiring simultaneous BOLD and electrophysiological measures, offers an opportunity to identify underlying neuronal activity. However, in distinction to convolution, the validation of model deconvolutions, in particular with respect to correlation measures with local field potentials (LFPs) and multi-unit activity (MUA), has not been studied to date.

In animals, multispectral intrinsic optical imaging has been developed and combined with

measures of flow to enable the measurement of distinct hemodynamic components in the same experiment (Jones et al., 2001; Culver et al., 2003; Durduran et al., 2004). By combining intrinsic and speckle flow optical imaging, simultaneous data on blood flow, volume and oxygenation can be acquired. Based on these measures, it has been shown (Dunn et al., 2005) that specific vascular and metabolic parameters can be estimated from imaging data with biophysical models, despite the presence of some number of poorly estimable parameters. The increased information content in these multimodal measures was recently used by this group to estimate vascular and metabolic parameters in an aging animal model (Dubeau et al., 2011). However, the neuronal input was not studied in this previous work.

Deconvolution techniques have a long history, starting with the Monte Carlo method (particle filtering) and the Kalman filter. A recent cubature implementation, the Square-root Cubature Kalman Smoother deconvolution (SCKS), was shown to be able to recover neuronal inputs on simulated data using the Buxton-Friston model (Havlicek et al., 2011). The first goal of this paper was to evaluate the performance of this technique on *in vivo* data. Intrinsic optical imaging and forepaw stimulation were used to evaluate the sensitivity and specificity of SCKS deconvolution. The non-linear neuronal input deconvolutions were compared first to stimulation onsets, and later to measured LFPs and MUA. Good sensitivity of the technique was obtained with both LFPs and MUA over the whole recordings, with the area of the ROC curves favoring LFPs. When excluding stimulation periods, spontaneous activity measured by LFPs and MUA was also compared with SCKS neuronal estimates and performance decreased. Finally, the accuracy of state reconstructions was studied and SCKS reconstructed states were highly concordant with neuronal measures.

7.6 Methods

7.6.1 Review of SCKS and parameter estimations

As already mentioned, the SCKS deconvolution approach was recently shown to be so far among the best performing algorithms for simulated BOLD fMRI data (Havlicek et al., 2011). The first goal was to evaluate how the algorithm would perform on real data. For that, the algorithm and Matlab code of Havlicek et al. (2011) was used, with some minor modifications, mainly to account for the 3 hemodynamic measures provided by the optical imaging setup (see below) with different levels of noise.

Referring to Havlicek et al. (2011) and Arasaratnam and Haykin (2009), and appendices A and B for details, only the key steps of the algorithm will be highlighted here. SCKS stands for a Bayesian iterative algorithm of alternating forward and backward passes by a Kalman filter on the data. The intuition behind any Kalman-type deconvolution method is

that the algorithm iteratively refines its estimate of the inputs conditional on the data, until a convergence criterion is reached.

With a focus on recovering as precisely as possible the neuronal inputs from the hemodynamic data, the Buxton-Friston model parameters (Appendix A) were kept constant, to their values estimated for each rat individually as explained in earlier work (Dubeau et al., 2011) by an expectation-maximization algorithm due to Friston (2002). In a further simplification, noise parameters were not promoted to the level of time-varying states to be estimated, so they were SCKS-estimated constants. It was checked that relaxing either assumption (letting hemodynamic and noise parameters vary) had no significant impact on results.

The forward Kalman filter (known as SCKF) consisted of an iteration of prediction and update steps on each successive data time point. The prediction was based on Ito-integrating (with a local linearization of a Jacobian) the differential equations of the Buxton-Friston model, which were rendered stochastic by inclusion of additive noise. The update step was given by the measure model (Appendix A). The prediction and update steps required the evaluation of N-dimensional integrals over Gaussian probability densities. The cubature method consisted in approximating these integrals by sums over only $2N$ points, which was previously shown to be optimal (see Arasaratnam and Haykin (2009) for more information). Here, $N=5$ for 4 states and 1 input variables. To ensure positivity of the covariance matrices, their square roots were propagated. After each forward pass, a variational Bayes (VB) estimation of noise was performed. In the backward pass, a Rauch-Tung-Striebel (RTS) smoother was performed. The Robbins-Monro scheme was not used, since parameters were held constant.

In summary, SCKS was performed by iteratively applying the above forward (Kalman SCKF) and backward (RTS) passes. Convergence was determined based on a log-likelihood criterion.

Specifically, the estimation here was carried out on data recordings of approximately one hour, acquired and processed at 5 Hz, and the algorithm ran in a few minutes on a Xeon computer for one experiment. Matlab code and datasets are available upon request.

7.6.2 Surgical procedures

All procedures were conducted according to the recommendations of the Canadian Council for Animal Care, and were approved by the animal ethics committee of Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal Research Center. $n = 9$ Wistar (350 ± 20 g, male) rats were used (a tenth rat was discarded from results due to poor neural and hemodynamic responses to stimulations). The animals were initially anesthetized with isoflurane (5%) and rectal temperature was monitored and maintained at 37°C with a heating blanket (Harvard Apparatus,

MA, USA). One catheter was inserted in the right femoral artery to monitor blood pressure and another in the right femoral vein for α -chloralose injection (10 mg/mL in saline, Sigma Aldrich, ON, Canada). Rats were mechanically ventilated (Kent Scientific, CT, USA) via a tracheotomy using ambient air. Breathing rate was recorded, and maintained around 50 ± 4 /min using a constant pressure of 6.8 ± 0.3 mm H₂O. End tidal expired CO₂ concentration (Capstar, GENECE, QC, Canada) and heart rate (Nihon Kohden, Japan) were monitored and recorded continuously. Rats were positioned on a stereotaxic frame (WPI, FL, USA) fitted with atraumatic ear bars. A section of 1 cm² over the skull was exposed and a region around bregma (AP: 0 mm, DV: 0 mm, L: 3 mm on each side) was thinned to translucency (approx. 0.2 mm) with a rotary tool bilaterally on the cortex. Two needle electrodes were inserted on each side of the left forepaw for stimulation. The muscular excitation threshold was determined with a 0.3 ms pulse. During imaging, stimulation current amplitude was fixed to 0.9 fold the measured muscular threshold (average: 1.05 ± 0.15 mA) and always maintained between 0.7 and 1.5 mA. Each animal was subjected to three interlaced stimulation protocols: trains of either 3, 15 or 45 electrical pulses were used (3 Hz, 300 μ s, 0.7-1.5 mA) to generate 1 s, 5 s or 15 s stimulation trains. Each train was separated by a 20 s rest period plus a jitter between 0 to 3 s to avoid systemic synchronization. Each protocol was repeated 40 times.

After surgery, isoflurane administration was stopped and replaced with α -chloralose (first a bolus of 50 mg/kg, then 40 mg/kg/h) and time was allowed for the animal to stabilize (10 min). Mineral oil was added to the exposed skull to prevent drying and to facilitate camera focus. The rats stayed anesthetized for 4 h and sacrificed at the end of the experiments.

7.6.3 Data acquisition

The images were acquired with a 12 bit CCD camera (CS3960DCL, Toshiba Teli, ON, Canada) with 1392 \times 1040 resolution and CCD pixel size of 6.45 μ m. A Labview interface (National Instruments, TX, USA) was used to control the camera, record the images, synchronize the acquisition and electrical stimulation, and change the illumination. A Nikkor Macro lens ($f = 50$ mm) was used to get an effective resolution of 17.4 μ m and a sufficiently small focal depth (350 μ m). Lens focus was performed on veins and arteries located at the surface of the somatosensory cortex. The camera aperture was set to 5.6. Functional images were recorded with multiple wavelengths flashing illumination (525, 590, 637 nm; respective half intensity bandwidth: 33, 10 and 13 nm) produced by high power Light Emitting Diodes (LEDs, Optek Technologies, TX, USA). The illumination was adjusted so that no part of the cortex saturated the camera for any of the wavelengths. For laser speckle imaging, a near infrared 780 nm laser diode was used and the chosen camera aperture of 5.6 was such

that the pixel size matched the speckle size (Briers et al., 1999; Briers, 2001). The three illumination LEDs and laser were interlaced, leading to a final frame rate of 5 Hz for each of the 4 measures. The camera shutter speed was set at 10 ms.

For extracellular electrode recordings (Logothetis, 2002), a small hole was performed in the skull and the dura with a needle #22 in the area corresponding to the forepaw and a plastic-coated tungsten electrode was inserted (FHC impedances 1-4M Ω , coordinates from bregma: AP: 0 mm, DV: 0 mm, L: 3 mm). Extracellular signals were recorded simultaneously with optical imaging (preamplifier: WPI, DAM 70 3-3000Hz, DAC: NI-6143 at 10 kHz). To obtain MUA, the electrode signal was filtered (100 Hz to 8 KHz bandpass) and events (spikes) were defined by crossings of a threshold equal to four times the root mean square of the baseline state and binned into 33 ms bins. To obtain LFPs, extracellular recordings were spectrally decomposed (FFT, MATLAB; sliding window of 200 ms, step size of 33 ms) and integrated over two frequency bands: *low-frequency*, 10 to 56 Hz, and *high-frequency*, 66 to 130 Hz, avoiding 60 Hz, and referred to later as LFP(low) and LFP(high), respectively. Resulting MUA and LFPs were then low pass filtered and downsampled to match the sampling rate of hemodynamic data (5 Hz).

7.6.4 Data processing and selection

Spectroscopic imaging analysis is similar to previous published work (Dunn et al., 2003). Reflectance signals from the LEDs were collected with the CCD camera and were converted to changes in absorption $A = \log(R/R_0)$. A pseudo-inverse and the modified Beer-Lambert law were used to extract relative changes in deoxyhemoglobin (HbR), and oxyhemoglobin (HbO). Different path lengths factors were used depending on the scattering and absorption properties of tissue at distinct wavelengths with $D(\lambda)$ taken from Dunn (Dunn et al., 2005) and Kohl (Kohl et al., 2000). Baseline concentrations of 60 μ M and 40 μ M for HbO and HbR were assumed (Dunn et al., 2005). Blood flow was computed by calculating the spatial fluctuations of the speckle produced by coherent light from a laser diode. 5 \times 5 pixel regions were used to calculate the contrast image and the relative variation of blood flow (Duncan and Kirkpatrick, 2008; Dunn et al., 2001, 2005). For each animal, a region of interest (ROI) around the maximum response was defined manually, contributions from medium and large arteries and veins found in the ROI were carefully removed, and the average over the remaining pixels was calculated to obtain the hemodynamic time series to be deconvolved with SCKS.

7.6.5 Sensitivity-specificity analysis

Sensitivity and specificity analysis was carried out using standard receiver operating characteristic (ROC) curves. First, each signal data series (in turn SCKS estimated input, LFP(high) or LFP(low), MUA, or electrical stimulations information) was divided into 1.6 s windows (results were relatively insensitive to this choice of window size, see section 3.3). Next, a notion of truth had to be defined, referred to as the gold standard (GS). When using the periods of electrical stimulation as GS, each window was set to true if a stimulation had occurred during the window (even if the overlap was tiny, as when a window fell at the beginning or end of a stimulation train), and false otherwise. When using the LFPs or the MUA amplitudes as GS, a fixed threshold was used, set to the mean GS signal plus one standard deviation (SD) of the GS signal amplitude outside the stimulation periods, defined as starting 3 s after the previous stimulation and ending 3 s before the next. Each window was then set to true if the recorded amplitude exceeded this GS threshold anywhere in the window, and false otherwise.

For a chosen GS notion of truth, to construct the ROC curves of each detection (D) signal (one of the SCKS estimated inputs, LFPs or MUA), another threshold was set, this time on the D signal. For each window, a detection was declared if the D signal amplitude exceeded the D threshold anywhere in the window. For a given D signal threshold, a count of the number of true (resp. false) positives was thus obtained if detections occurred during true (resp. false) windows and of true (resp. false) negatives if no detection occurred during the false (resp. true) windows. Receiver operating characteristic (ROC) curves of sensitivity against the false positive rate were calculated by varying the D signal threshold over the full range of the detection signal. The ROC area was provided as a convenient single number representative of the performance of detection. An area of 50% was expected by chance alone, while an area of 100% showed perfect detection accuracy. Another useful measure was the positive predictive value, which was the proportion of positives detections that were true positives.

7.7 Results

7.7.1 Evaluation of estimated neural input and neural measures with stimulation protocol as gold standard

With rat hemodynamic data series deconvolved to recover neural inputs, and LFPs and MUA filtered as explained in the methods, the quality of the SCKS fit was displayed in a 300 s representative sample of data from one rat (Fig. 7.1). The SCKS fit of HbR, HbT and blood flow matched closely the hemodynamic measurements of the same quantities (Fig. 7.1A).

Indeed, few differences were discernable on a 300 s window, so an 80 s zoomed in window was provided (Fig. 7.1C), where the fit of blood flow showed less accuracy, compared to HbR and especially HbT for which the fit still looked nearly perfect, yet arguably without overfitting.

Using the stimulations as GS, the scoring of true and false positives and negatives (Fig. 7.1B) was illustrated for this 300 s window for 3 different detection signals (SCKS, LFP(high) and MUA). In this example, the displayed threshold for detection from the deconvolved signal was chosen to get 85% of true positives, and the window size was 4 s. Following the time course for each of the 3 detection signals, a mildly interesting story could be told of good detections and near misses. It is possible that a more sophisticated detection metric could have detected the near misses or excluded the false detections. However the objective here was not to work on improving the detection or the SCKS deconvolution algorithms, but to statistically quantify the performance of the given algorithms at recovering the neural inputs.

For that purpose, ROC curves were illustrated for one rat and 4 detection signals (Fig. 7.2A) and the results were shown on the group of 9 rats (Fig. 7.2B). With electrical stimulations as GS, LFP(high) performed best for this rat and for the group on the ROC area measure, followed closely by LFP(low), MUA and finally SCKS. At the group level, the difference in performance of neural measures was also not significant, with LFP(low) performing best on the median, followed by MUA and LFP(high). The neural measures showed higher (by about 10%) ROC median areas than the SCKS estimated input, with all (neural measures and SCKS input) showing similar variability (again about 10%, on standard deviation).

7.7.2 Evaluation of SCKS estimated inputs with neural measures as gold standard

In this subsection, a study was made of how signal detection using SCKS estimated inputs was affected when using electrophysiological measures instead of the stimulation protocol as the truth. It was of interest to see their performance not only over the full experiment (Figs. 7.3A and 7.3C), but also during the periods excluding the electrical stimulations (Figs. 7.3B and 7.3D). These periods excluding the electrical stimulations could reflect “spontaneous” neural activity. Recall from section 2.5 that they were operationally defined as the periods starting 3 s after the end of a stimulation and ending 3 s before the start of the next stimulation.

Sample ROC curves for the SCKS estimated inputs were drawn for the best 2 recordings (individual rats, Figs. 7.3A and 7.3B) and group results are presented as boxplots (Figs. 7.3C and 7.3D). When ROC curves were constructed by focusing on spontaneous fluctuations (outside of stimulation periods), performance was significantly reduced (Fig. 7.3D). At the group level, no significant difference was observed in the performance of LFP(low) and LFP(high),

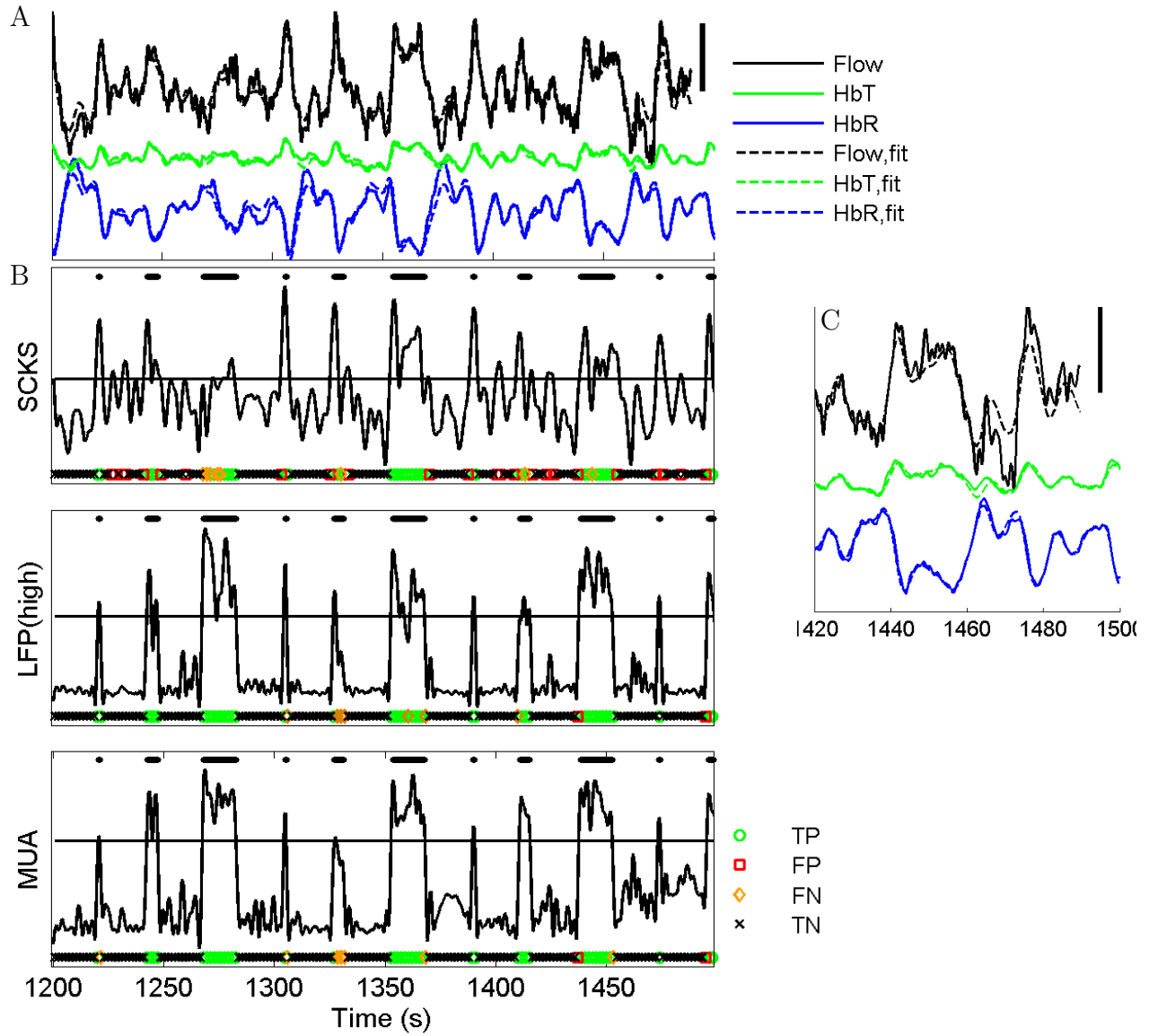


Figure 7.1: A. Fit obtained from SCKS overlaid over the measured hemodynamic response for HbR, HbT and flow. B. Representative sample over a 300 s window of SCKS estimated input and associated detections. LFPs and MUAs for the same time course shown below. Onset and duration of electrical stimulations (1, 5 or 15 s) shown as thick horizontal black bars. Vertical axis in arbitrary units. Symbols for true positives (TP), false positives (FP), false negatives (FN) and true negatives (TN) set in middle of 4 s windows used detections. Detection threshold chosen shown as thin horizontal black lines, with 85% of true positives for whole time course (3500 s). C. 80 s zoom of Fig. 1A further showing fit accuracy.

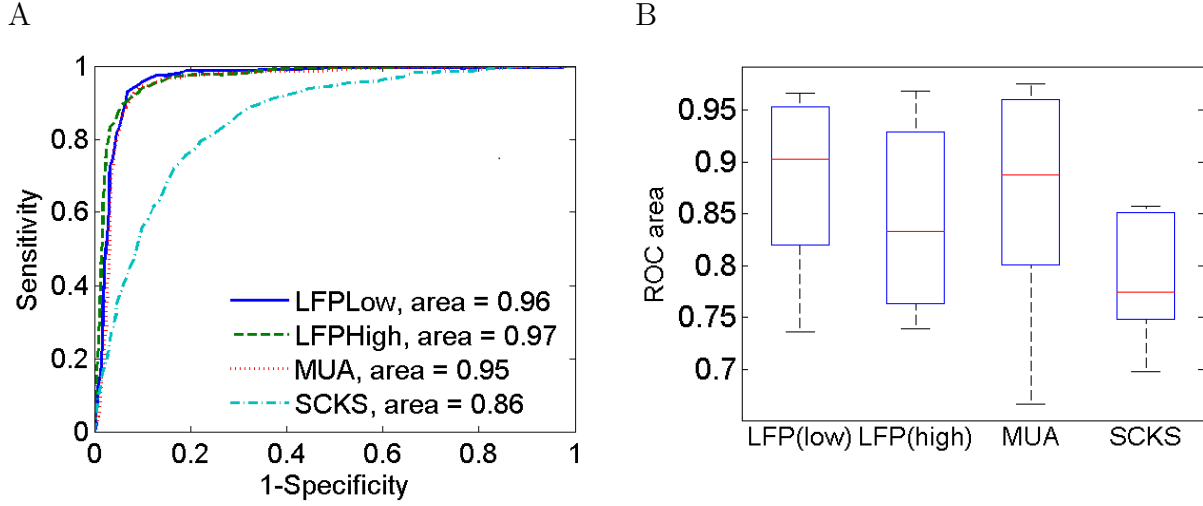


Figure 7.2: ROC curves (parameterized by detection threshold) and areas for LFP(low), LFP(high), MUA and SCKS estimated input, with electrical stimulations defining truth. A. ROC curves for best recording (one rat). B. Distributions of ROC areas for group of 9 rats. Median, minimum, maximum, and 25th and 75th percentiles shown with boxplots.

despite differences reported in Sirotin and Das (2009). Whether neural measures or stimulations were used as truth, ROC area variability was similar (except MUA over whole experiment, where variability was higher).

7.7.3 Effects of window size and of thresholds for neuronal measures as gold standard

Concerned about the relatively low values for detections at the chosen detection thresholds outside of stimulation periods, several attempts were made to improve this situation, discussed in turn below: effect of changing the window size (Fig. 7.4A), of changing the GS threshold (Fig. 7.4B), of changing the detection threshold (Figs. 7.4C and 7.4D), and of physiological fluctuations (next subsection). In this subsection, data with LFP(low) as GS were shown since in the previous section this choice of GS among the neuronal measures led to the highest ROC curve areas). Results were similar with LFP(high) or MUA as truth (not shown).

To explore the effect of changing the window size, an effort was made to remove one confounding effect: perhaps due to non-linearities due to neural response over the time course of longer stimulations, differences in SCKS performance were noted for stimulations of 1, 5 and 15 s (see also Fig. 7.5B). Restricted datasets were thus constructed: for 1 s stimulations, the data was restricted to periods starting 3 s before a 1 s stimulation and ending 3 s before

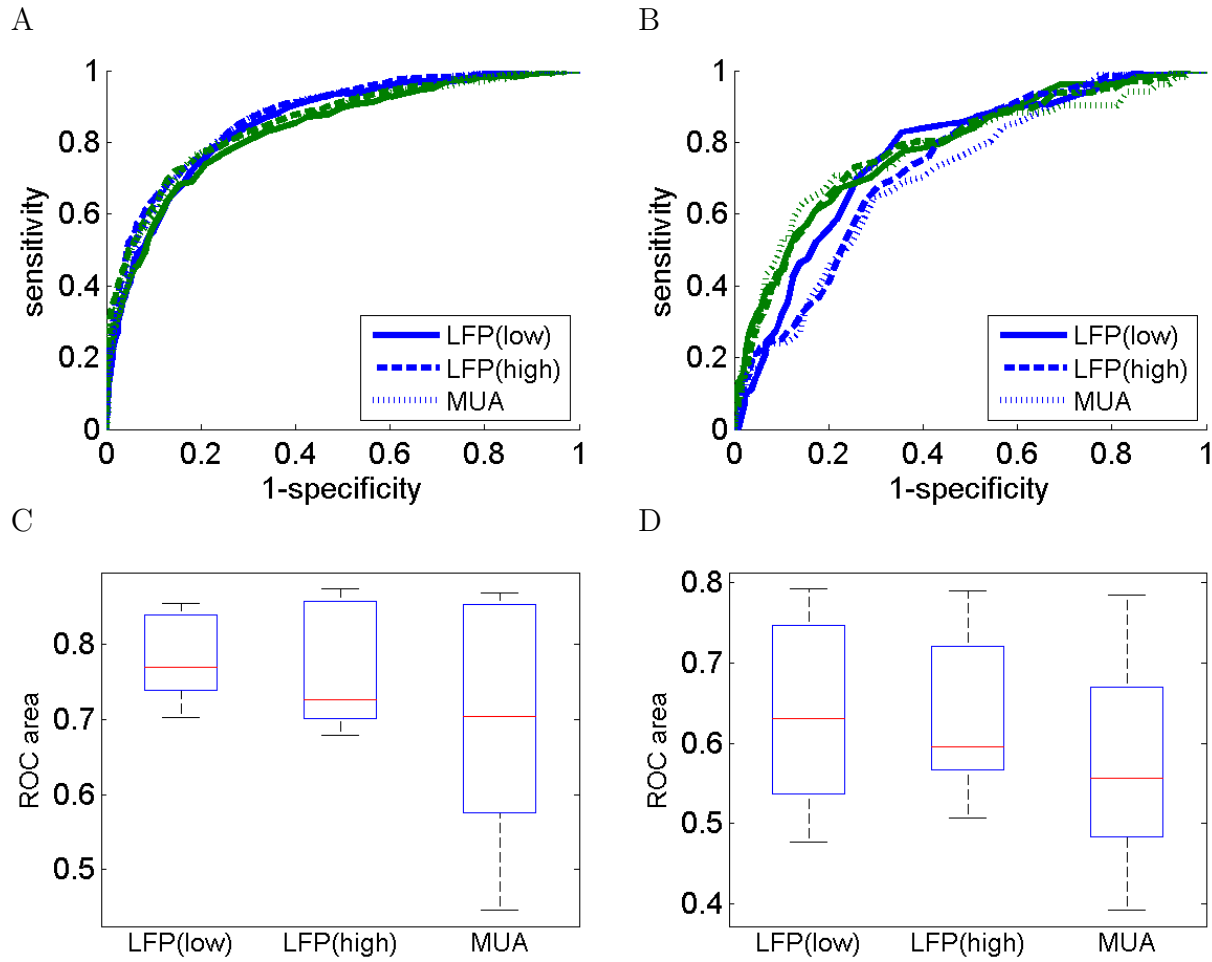


Figure 7.3: ROC curves and areas for best two recordings for detection with SCKS inputs as signals, based on different measures of neural activity activity as GS (LFP(low), LFP(high), MUA), A. over whole experiment and B. only over windows excluding stimulations (for “spontaneous” activity). Individual rats labeled by curves of different colors. For these 2 rats, A. little difference between neural measures and stimulations as truth and B. for spontaneous activity, areas were lower, but better than chance. At group level, similar results were found for ROC area with SCKS inputs as detection signal and neural activity activity as GS: C. over whole experiment and D. excluding stimulation periods. SCKS estimated input ROC areas were lower (slightly for LFP(low) as truth) when using neural measures as GS than when using electrical stimulations. Excluding stimulation periods however, ROC areas were even lower by an additional 10%. For most rats, detectability of spontaneous activity was better than chance alone. LFP(low) was best performer among neural measures over whole experiment and during rest periods.

the next stimulation; similarly for 5 s and 15 s datasets. It was noted that the mean (and median) ROC area for detection over the restricted datasets was greater than for detection over the whole experiment (increase in ROC area of about 5%, results not shown except for 1 s datasets (Fig. 7.4A)). For detections over the whole experiment, the detection thresholds were therefore never optimal for all 3 stimulation types simultaneously.

To exclude these potential non-linearities from the effect of varying the detection window size, the dataset restricted to 1 s stimulations was used. ROC areas were calculated as the window size was varied from 0.4 s to 4.8 s in 0.4 s increments (Fig. 7.4A). The optimal window size obtained was 1.6 s based on the mean ROC area and corresponded approximately to the minimal fluctuation time scale (see Fig. 7.1C). However, the variability of ROC areas indicated that window size had little impact on the results in this work.

Next, the effect of changing the GS threshold was considered. Due to the much stronger amplitude of responses during stimulations than during spontaneous activity, the periods of stimulation were excluded for this test. Previously, the GS threshold was set to one standard deviation above the mean of the GS signal, calculated during periods in-between stimulations. For this test, the ROC area was calculated for different GS thresholds with LFP(low) as GS (Fig. 7.4B), over periods excluding stimulations. A peak in mean ROC area was seen at a threshold of 2.75 SD above mean, but few positives were left (14 ± 7) so far in the tail of the distribution. Considering that mean ROC areas showed little variation with the GS threshold, a threshold of 1 SD above mean was chosen as a fair compromise between higher ROC areas and having enough positives left (83 ± 47).

Finally, beyond the information already contained in ROC curves, the effect of changing the detection threshold was further studied. It was noted that the Positive Predictive Value (PPV) was low for thresholds below and up to the mean of the detection signal (Fig. 7.4C, showing PPV with detections performed either over the whole experiment or during the periods excluding electrical stimulations). The PPV was higher and had larger variance for higher thresholds, reaching almost 80% during the whole experiment but not even reaching 30% over periods excluding stimulations. However, these higher values of the PPV were accompanied by a rapid decrease of positives detection number (Fig. 7.4D). Despite this decrease, this test showed that for ROC curves calculated over periods excluding stimulations, there was still a range of detection thresholds (from -1 to +1 SD from mean) where enough true positive events existed and the PPV value was well above zero, so that ROC curves could be considered reliable.

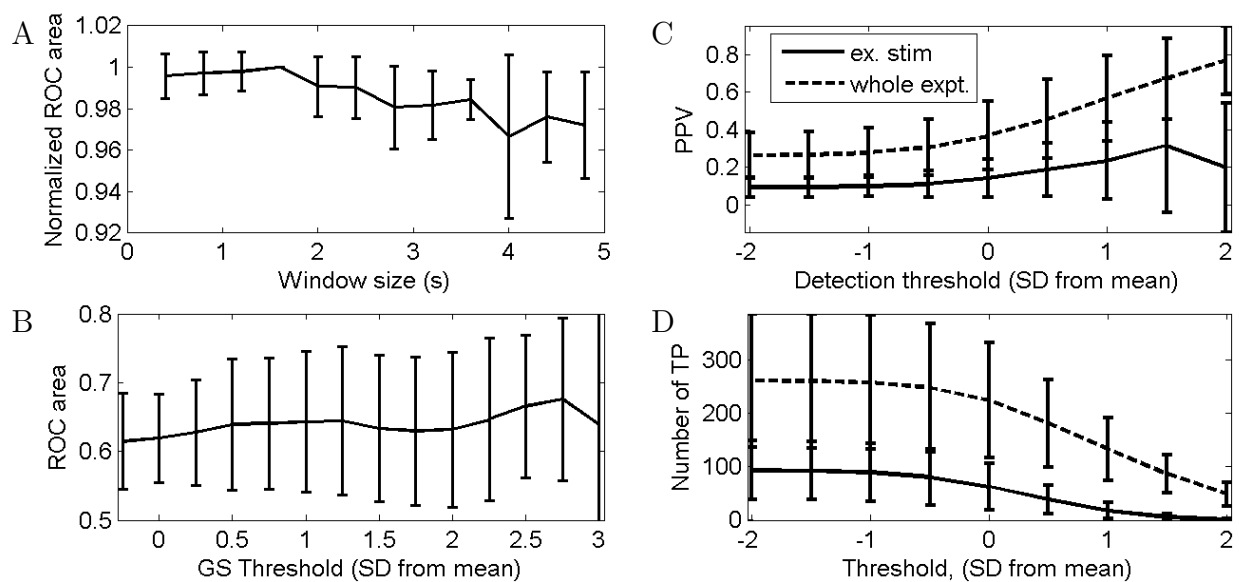


Figure 7.4: A. Effect of detection window size on group mean ROC areas and SD, for periods of 1 s stimulations (see text). Optimal window size was 1.6 s based on mean, but results were mostly insensitive to choice of window size. B. Effect of GS detection threshold on ROC area. Truth threshold defined as multiple of standard deviations from mean truth signal, for detections over periods in-between stimulations. Threshold of 1 SD above mean (used for Fig. 7.3) viewed as optimal. Finally (see text), effect of signal detection threshold on C. positive predictive value (PPV) and D. number of true positives.

7.7.4 Other effects: group vs individual hemodynamic priors, ipsi vs contralateral cortex, use of flow data, physiological noise removal

Many other potential effects could play an important role in the performance of the deconvolution method for real data. This subsection reports briefly different effects, which are presented as group means of ROC areas (Table 7.1). In rows, the ROC area (\pm SD) is shown for the SCKS estimated inputs with, in turn as the GSs, stimulations, LFP(low) and LFP(high) over whole experiment and LFP(low) and LFP(high) during rest periods in between stimulations. An additional row shows the mean squared error (MSE). In column 1, the base case is shown, which consisted of the following 4 features and was covered in detail in previous sections: (1) deconvolution was performed with hemodynamic parameters of B-F model customized to each rat individually, (2) blood flow measurements (as well as HbR and HbT) were used for the deconvolution, (3) a GLM to remove physiological confounds was not used, and (4) the cortical region contralateral to stimulations was used for optical measurements.

In the next 4 columns, exactly one change was made with respect to the base case. In column 2, priors for biophysical parameters of the B-F model were group-level priors. Individual priors performed better than group priors, when stimulations were used as the truth. However, for LFP(low) outside stimulation periods, no difference was seen. In column 3, the noisier measure of blood flow was excluded from SCKS deconvolution. Results were not statistically different from the base case (except for stimulations as GS, where excluding blood flow reduced the mean ROC area). In column 4, a general linear model (for the electrical stimulations, as well as the heart rate and blood pressure with delays from -3 to 3 s in 1 s steps, all convolved with the hemodynamic response function produced by the B-F model, adding up to 22 regressors) was used to remove physiological confounds. Outside stimulation periods, no difference in detectability was seen compared to base case. This was an indication that systemic physiology had been adequately controlled during the experiments. In column 5, a region ipsilateral (L) to stimulation was used for deconvolution from the optical measures. Neural measures came from the contralateral side. For all choices of GSs shown in the table, the contralateral deconvolved neural input correlated better to the stimulations than the ipsilateral side.

7.7.5 Evaluation of SCKS reconstructed states

So far, attention was focused on the SCKS estimated inputs. However more information is produced by this Bayesian deconvolution scheme, including all the states of the B-F model. It was then of interest to see how well the hemodynamic states were recovered by SCKS. In

	1	2	3	4	5
Gold standard	Base case	Group priors	No blood flow	GLM confounds	Ipsilateral region
Stimulations	0.78 ± 0.06	$0.69 \pm 0.09^{**}$	$0.76 \pm 0.06^*$	0.76 ± 0.10	$0.56 \pm 0.05^{**}$
LFP(low)	0.78 ± 0.05	$0.73 \pm 0.10^*$	0.78 ± 0.06	0.75 ± 0.11	$0.63 \pm 0.09^{**}$
LFP(high)	0.76 ± 0.08	$0.70 \pm 0.10^*$	0.75 ± 0.08	0.73 ± 0.12	$0.62 \pm 0.08^{**}$
LFP(low), ex. stim.	0.63 ± 0.12	0.59 ± 0.12	0.62 ± 0.12	0.62 ± 0.12	$0.58 \pm 0.12^*$
LFP(high), ex. stim.	0.62 ± 0.10	$0.59 \pm 0.11^*$	0.62 ± 0.12	0.62 ± 0.10	$0.57 \pm 0.10^{**}$
Mean squared error	0.56 ± 0.35	0.69 ± 0.31	$0.14 \pm 0.14^*$	0.51 ± 0.29	$0.83 \pm 0.30^{**}$

Table 7.1: ROC areas and SD of SCKS estimated input for base case and 4 other deconvolution variants (columns), for stimulations, LFPs over whole experiment and LFPs excluding stimulation (ex. stim.) periods as truth. Significance of paired T-test with respect to column 1: *:P<0.05, **:P<0.01 .

general, such states are hidden variables of the model, not directly accessible to measurement. Fortunately in the experimental setup here, the states (flow, HbT and HbR) of the B-F model were linearly related to the measurements, up to normalization, instrument and physiological noise. States could be constructed in three different ways: from the SCKS estimated states, from the measurements and from the hemodynamic response generated by the B-F model with a neuronal measure as inputs (here LFP(low)). For each rat, the states corresponding to the 1 s, 5 s and 15 s stimulations were averaged over the 40 repetitions. At the subject level, differences between SCKS estimated states, the hemodynamic response to the LFPs generated by the B-F model, and the actual measurements were not statistically significant. To compare the states at the group level, an overall rescaling factor for each rat was then applied to the averaged states so that the largest amplitude change, measured from peak to trough, was rescaled to unity. The mean and SD of the resulting normalized curves were plotted (Fig. 7.5A, HbR only). For all stimulation durations, an “initial dip” (Buxton, 2001), (here shown as a brief (1 s) initial increase of HbR), was seen in the measured states and the LFP(low) generated states, but only weakly in the SCKS states. This could be due to a filtering effect of SCKS that did not allow rapid enough changes in neuronal input. For the 15 s stimulations, a double peak was noted (shown here as a double dip in HbR, also observed in (Martindale et al., 2005; Zheng et al., 2010)).

Returning to the neural inputs $u(t)$, the shape of the SCKS estimated inputs was compared to the more direct measures of neural inputs given by LFPs and MUA measurements. For that purpose, a similar averaging as described above was performed on the SCKS estimated inputs and on the LFP(low) and MUA measures (after preprocessing as explained in Methods to obtain a 5 Hz data series; please note that the presence of acausal electrophysiological

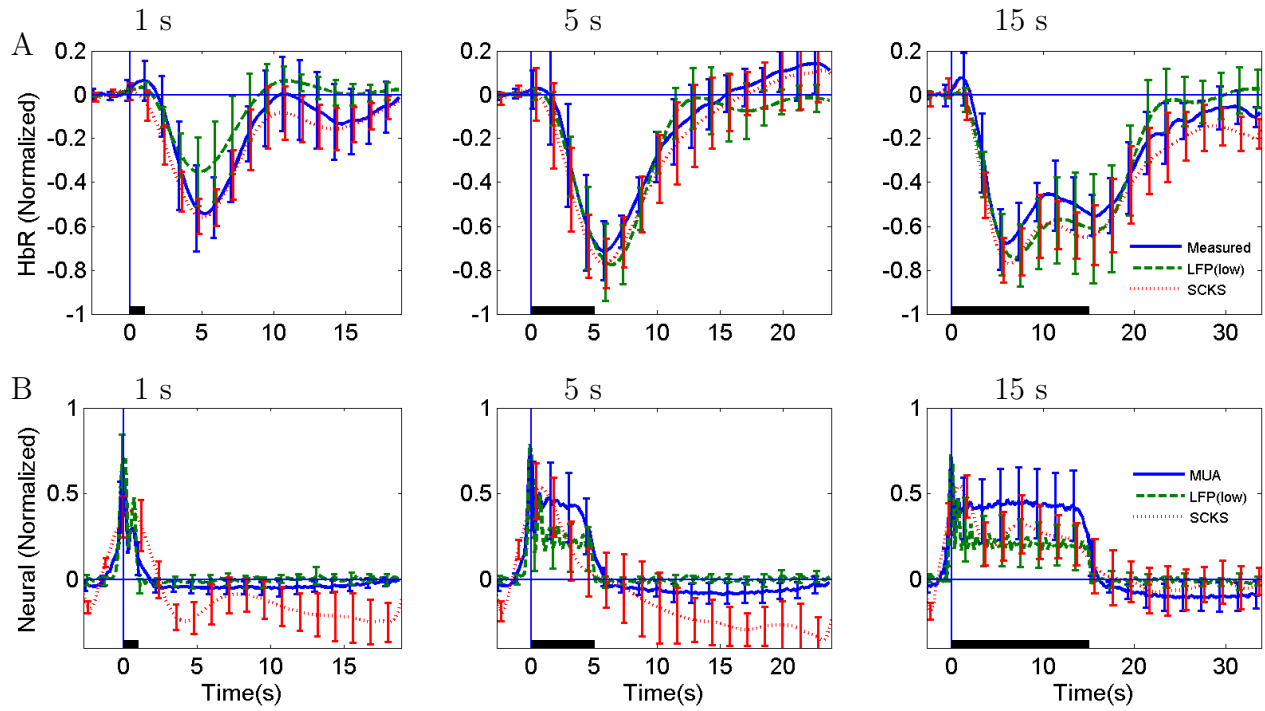


Figure 7.5: For 1 s (left), 5 s (middle) and 15 s (right) stimulations, A. HbR response measured, reconstructed by LFP(low) via the B-F model and by SCKS deconvolution, and B. Neuronal signals for LFP(low) and MUA and SCKS reconstructed signal $u(t)$. Error bars: SD.

responses preceeding stimulation onsets by up to 300 ms in Fig. 7.5B was a blip due to a residual widening of the shape of the electrophysiological responses coming from the filtering of artefacts at 60 Hz and 5 Hz caused by interaction between switching of laser illumination and the electrophysiological recordings, and remained a limitation to the onset phase of the neural measures). The reconstructed inputs showed a prolonged undershoot and were temporally wider than the measured neuronal activity, either by LFP(low) or MUA. For 15 s stimulations, the SCKS estimate also showed a double peak, probably coming from a low pass filtering effect of the SCKS algorithm. Aside from these differences, the shapes of neuronal measures and reconstructed inputs were remarkably similar.

7.8 Discussion

The initial goal was to assess whether recently developped deconvolution methods reflected the neural inputs as measured by stimulations, LFPs and MUA. Results showed that for events that were well defined and stimuli driven, deconvolution performed very well and events could be recovered. For spontaneous (or spurious) events, intensity of the neural activity was smaller both in amplitude and in duration. The deconvolution method allowed to recover a reconstructed measure of neural activity that correlated with the neural LFPs and MUA. This observation is relevant to resting-state investigations. Moreover, since SCKS reconstructions performed better when using individual priors, it suggests a benefit for resting-state studies in including scan time under stimulation in order to estimate the individual hemodynamic response.

The SCKS method has other potential applications. For example, in epilepsy research, identifying neural events based on electroencephalography (EEG) is notoriously difficult, time-consuming and subjective. For imaging methods like fMRI which depend on EEG to detect events indicating the onset of a hemodynamic response, one could hope to use the estimated inputs of SCKS in lieu of EEG. While neither EEG marking nor SCKS will recover all the neural signals, it was shown in simulations (Machado et al., 2011) that GLM estimates remain reliable even when some fraction of events has been missed, supporting this strategy.

7.8.1 Application to spontaneous neural fluctuations

Statistical results showed that deconvolution outside of stimulation periods were only slightly better than chance, even with the added constraints brought by the multimodal approach. Also, Fig. 7.4C showed that by restraining the analysis to SCKS detections of high amplitude, the PPV score increased, indicating a better coupling between hemodynamic response and neuronal activity at high amplitudes. However, PPV never reached a value near

1. These observations suggest neural and hemodynamic response uncoupling, an example of which was recently described (Sirotin and Das, 2009). As for reasons why the SCKS inputs did not correlate even better with the spontaneous neuronal activity, it might be that the stimulations were too strong and that the hemodynamic response from stimulations inhibited the spontaneous fluctuations, either reducing their amplitude or their frequency occurrence. However, in all cases, stimulations were below muscle threshold and the hemodynamic response from stimulations remained much smaller than the observed physiological signals. In summary, it was clear that under no choice of GS or detection thresholds could SCKS recover 100% of the neural events. These results provide indication that using such deconvolution on resting state signals might be more challenging than originally thought.

7.8.2 Effects of the different detection measures

The methods used above relied upon many parameters. The results were evaluated in view of some of the choices that were made in a number of these parameters (sections 3.3 and 3.4). Results mildly changed with the size of the detection window (within a 0.4 to 4.8 s range) and GS thresholds. Alternative definitions of SCKS inputs detection were tested, based on the area under the SCKS input signal and on SCKS signal power (results not shown). The detection method with a threshold set on signal amplitude used here always yielded better ROC curves suggesting that it was an adequate choice.

7.8.3 Limitations

While optical imaging offered the opportunity to use different components of the hemodynamic response for deconvolution, its spatial sampling remained limited to the cortex. BOLD based deconvolution could use the anatomy to identify a subset of fluctuations due to physiology and regress these out of the data prior to deconvolution. The poorer performance found for spontaneous events might be significantly improved if physiological fluctuations were more thoroughly controlled. Removing this systemic physiology was attempted here by using a GLM of confounds built with regressors for cardiac rate and respiratory amplitude and rate (and also hemodynamic responses in other regions of the superficial dorsal cortex imaged away from the main activations, results not shown). However, GLM-corrected data did not lead to higher ROC area measures.

In this study, the periods where no stimulation occurred were limited to small periods (14 s duration) between stimulation periods, which did not represent a true resting state. The performance observed above would have to be validated in realistic resting state conditions to see if there would be improvements. An animal epilepsy model might be appropriate here

and will be the subject of further studies.

7.9 Conclusion

Modern deconvolution strategies may hold the promise of recovering neural inputs from hemodynamic measurements, which could have many interesting applications, such as tighter modality fusion between EEG and fMRI, better description of causal triggers between brain regions, and as an alternative method to extract useful neural information. However with few exceptions (see Friston et al. (2008) for an example on human BOLD data), these deconvolution methods had not been validated beyond computer simulations. Here, the performance of deconvolution was tested in controlled animal experiments undergoing electrical stimulations, with multimodal optical imaging and electrophysiological recordings. SCKS performed well for detection of stimulations and a good correlation was found between estimated neural inputs and actual neural measurements. For spontaneous neural activity, correlations were much lower, but still better than chance. This suggests that the deconvolution program may live up to its promise.

Acknowledgements

S. Dubeau was partly supported by a RQRV pilot grant to GF, FL and EB. This work was supported in part by the Emerging Team Grant Program of the Canadian Institutes of Health Research, by the Discovery Grant Program of the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, by the Canadian Foundation for Innovation and by the Imagine group at Ecole Polytechnique Montreal.

7.10 appendix A: Buxton-Friston model

The Buxton-Friston (B-F) hemodynamic model has been described extensively elsewhere (Buxton et al., 1998; Friston, 2000). The state variables were defined by $X = \{x_{sf}, x_f, x_v, x_q\}$ with parameters $\alpha = \{\kappa_{sf}, \kappa_f, \tau, \alpha, E_0, \varepsilon_f\}$, and the inputs were $u(t)$. With the data in this work, this was a single-input, multiple-output (SIMO) model as blood volume, deoxy-hemoglobin changes and flow were measured. The state equations were:

$$\begin{aligned} \dot{x}_{sf} &= \varepsilon_f u(t) - \kappa_{sf} x_{sf} - \kappa_f (x_f - 1), & \dot{x}_f &= x_{sf} \\ \dot{x}_v &= \frac{1}{\tau} (x_f - f_{out}) \text{ where } f_{out} = x_v^{1/\alpha} \\ \dot{x}_q &= \frac{1}{\tau} \left(x_f \frac{1 - (1 - E_0)^{1/x_f}}{E_0} - x_q x_v^{-1+1/\alpha} \right). \end{aligned} \tag{7.1}$$

The integration for x_f, x_v, x_q was performed in log space to enforce their positivity. The measurement model for the outputs $y = g(x)$ was

$$y_{\text{HbT}} = c_v(x_v - 1), \quad y_{\text{HbR}} = c_q(x_q - 1) \quad \text{and} \quad y_{\text{CBF}} = c_f \frac{x_f + f_{\text{out}} - 2}{2}$$

where the first two time series were obtained from intrinsic imaging, the last from speckle imaging, and c_v, c_q and c_f were constants fitted from the data.

7.11 appendix B: Details on SCKS

More information is now presented on the dynamical system to be studied and the SCKS algorithm. The dynamical system consisted of 5 extended states $\tilde{x} = \{\tilde{x}_1, \dots, \tilde{x}_5\} = \{x, u\}$ (with the time index suppressed for now) for the 4 states x of the B-F model and for the neuronal input u . The objective was to estimate \tilde{x} , and especially u , from the multimodal measurement data. The input u was assumed to follow a zero-mean Gaussian process $\mathcal{N}(0, V)$ with constant variance V . The states were assumed to follow continuous-time coupled first order nonlinear stochastic differential equations (SDE) with additive white noise (Weiner process \mathcal{W}_t) with p constant parameters $\alpha = \{\alpha_1, \dots, \alpha_p\}$ (here $p = 6$):

$$dx = f(\tilde{x}, \alpha)dt + \sigma d\mathcal{W}. \quad (7.2)$$

The additive noise assumption meant that the 4 by 4 matrix σ was independent of \tilde{x} . It was also assumed that σ was a constant matrix, to be estimated from the data. The output measurements, at discrete times and denoted $y = \{y_{\text{HbO}}, y_{\text{HbR}}, y_{\text{CBF}}\}$, were of a linear form and independent of u , with $r = \{r_{\text{HbO}}, r_{\text{HbR}}, r_{\text{CBF}}\}$ a zero-mean Gaussian noise process (with covariance R also to be estimated from the data):

$$y = g(\alpha)x + r. \quad (7.3)$$

The SDEs for the states were solved by Ito integration:

$$x_{t+\Delta t} = x_t + \int_t^{t+\Delta t} f(\tilde{x}, \alpha)dt + \sigma(\mathcal{W}_{t+\Delta t} - \mathcal{W}_t). \quad (7.4)$$

To numerically evaluate the integral, the local linearization scheme was used. With a $\Delta t = 1$ time step, this gave:

$$x_{t+1} = x_t + J^{-1}(e^J - 1)f(x_t, u_t, \alpha) + q_t, \quad u_{t+1} = u_t + v_t \quad (7.5)$$

where $J = \partial f / \partial x$ was the Jacobian of f evaluated at t , and q and v were zero-mean Gaussian processes with covariance $Q = \sigma^T \sigma$ and V respectively.

The forward pass filter was initialized with $\tilde{x} = 0$, and prior values were assigned for the square-root S of all the covariance parameters, namely for Q , V and R , such that $SS^T = \text{diag}(Q, V, R)$. In the time update step, the predicted density $p(\tilde{x}_{t+1}|y_{1:t})$ was computed, with the notation $1:t$ indicating all time points up to time t . In particular, this allowed the prediction of the neuronal input u . In the measurement update, the posterior density $p(\tilde{x}_t|y_{1:t})$ was computed. For completeness, these 2 parts of the SCKF algorithm are now succinctly spelled out (A and B):

A- At each time step t , with the posterior density $p(\tilde{x}_t|y_{1:t}) = \mathcal{N}(\tilde{x}, SS^T)$ known, with all quantities evaluated at time t (e.g. $\tilde{x} = \tilde{x}_{t|t}$, $S = S_{t|t}$, etc.), the time prediction update consisted of the following 5 steps (SCKF):

(1) The state-dependent part S_Q of the square-root covariance was annealed, which consisted in setting to zero its off-diagonal entries and scaling down its diagonal entries by a factor $\lambda^{-1/2} - 1$ with λ close to 1 (actually 0.9995 here).

(2) The cubature points $X_i = S\xi_i + \tilde{x}$, $i = 1, \dots, 2N$, were evaluated, with $\xi_i = \sqrt{\frac{N}{2}}[1]_i$ and $[1]$ denoting the set of 5-vectors with one entry equal to 1 or -1 and the other entries are 0.

(3) The nonlinear function was evaluated at the cubature points: $\chi_i = f(X_i, \alpha)$.

(4) Replacing the predicted density integral for the expectation of the mean

$\tilde{x}_{t+1|t} = \int \tilde{x} p(\tilde{x}|y_{1:t}) d\tilde{x}$ by the cubature points average, the predicted states and input $\tilde{x}_{t+1|t} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \chi_i$ were estimated.

(5) The square root of the covariance was calculated as the triangular matrix resulting from QR decomposition of the weighted and centered propagated cubature points ($\tilde{\chi}_i = \chi_i - \tilde{x}_{t+1|t}/\sqrt{2N}$, stored for the backward pass) and the states and input covariance: $S_{t+1|t} = QR(\tilde{\chi}_i \ Q \ V)$.

B- With the predicted density $p(\tilde{x}|y_{1:t}) = \mathcal{N}(\tilde{x}_{t+1|t}, S_{t+1|t} S_{t+1|t}^T)$ known from steps (4) and (5) above, understanding that variables were evaluated at time $t + 1$ conditional on the history up to time t (e.g. $\tilde{x} = \tilde{x}_{t+1|t}$, $S = S_{t+1|t}$, etc.), the measurement update consisted of the following 9 steps:

(1) The cubature points were evaluated: $X_i = S\xi_i + \tilde{x}$.

(2) The cubature points were propagated: $Y_i = g(X_i, \alpha)$.

(3) The predicted measurement was estimated: $\hat{y} = \frac{1}{N} \sum Y_i$.

(4) The measurement (innovation) covariance matrix was estimated: $P_{yy} = \frac{1}{N} \sum Y_i Y_i^T - \hat{y} \hat{y}^T + R$.

(5) The cross covariance matrix was estimated: $P_{xy} = \frac{1}{N} \sum X_i Y_i^T - \tilde{x} \hat{y}^T$.

(6) The Kalman gain was estimated: $K = P_{xy} P_{yy}^{-1}$.

- (7) The states and input were updated: $\tilde{x}_{t+1|t+1} = \tilde{x} + K(y_{t+1} - y)$.
- (8) The error covariance was updated: $P_{t+1|t+1} = P - KP_{yy}K^T$.
- (9) The log-likelihood was calculated by $\log(y|\alpha) = -\frac{T}{2}(\log(2\pi) + \sum(\log|SS^T| + \frac{ee^T}{SS^T}))$, with $S = S_{yy,t+1|t}$ and $e = \hat{y} - y$, summing over all time points (T).

The forward pass now complete, the backward pass consisted in a Rauch-Tung-Striebel smoother, to compute the smoothed density $p(x_t|y_{1:t})$, but its description will be omitted and can be found in (Havlicek et al., 2010, 2011).

Bibliography

- Arasaratnam, I., Haykin, S., 2009. Cubature kalman filters. *IEEE Transactions on Automatic Control* 54 (6), 1254–1269.
- Aubert, A., Costalat, R., Valabregue, R., 2001. Modelling of the coupling between brain electrical activity and metabolism. *Acta Biotheoretica* 49 (4), 301–326.
- Behzadi, Y., Liu, T. T., 2005. An arteriolar compliance model of the cerebral blood flow response to neural stimulus. *Neuroimage* 25 (4), 1100–11.
- Boas, D. A., Jones, S. R., Devor, A., Huppert, T. J., Dale, A. M., 2008. A vascular anatomical network model of the spatio-temporal response to brain activation. *NeuroImage* 40 (3), 1116–1129.
- Briers, J. D., 2001. Laser doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas* 22 (4), R35–66.
- Briers, J. D., Richards, G., He, X. W., 1999. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (lasca). *Journal of Biomedical Optics* 4 (1), 164–164.
- Buxton, R. B., 2001. The elusive initial dip. *NeuroImage* 13 (6 Pt 1), 953–958.
- Buxton, R. B., Uludag, K., Dubowitz, D. J., Liu, T. T., 2004. Modeling the hemodynamic response to brain activation. *NeuroImage* 23 Suppl 1, S220–233–S220–233.
- Buxton, R. B., Wong, E. C., Frank, L. R., 1998. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn Reson Med* 39 (6), 855–64.
- Culver, J. P., Durduran, T., Furuya, D., Cheung, C., Greenberg, J. H., Yodh, A. G., 2003. Diffuse optical tomography of cerebral blood flow, oxygenation, and metabolism in rat during focal ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 23 (8), 911–924.
- Dubeau, S., Desjardins, M., Pouliot, P., Beaumont, E., Gaudreau, P., Ferland, G., Lesage, F., 2011. Biophysical model estimation of neurovascular parameters in a rat model of healthy aging. *NeuroImage* 57 (4), 1480–1491.
- Duncan, D. D., Kirkpatrick, S. J., 2008. Can laser speckle flowmetry be made a quantitative tool? *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 25 (8), 2088–94.
- Dunn, A. K., Bolay, H., Moskowitz, M. A., Boas, D. A., 2001. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab* 21 (3), 195–201.
- Dunn, A. K., Devor, A., Bolay, H., Andermann, M. L., Moskowitz, M. A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2003. Simultaneous imaging of total cerebral hemoglobin concentration, oxygenation, and blood flow during functional activation. *Opt Lett* 28 (1), 28–30.

- Dunn, A. K., Devor, A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2005. Spatial extent of oxygen metabolism and hemodynamic changes during functional activation of the rat somatosensory cortex. *Neuroimage* 27 (2), 279–90.
- Durduran, T., Yu, G., Burnett, M. G., Detre, J. A., Greenberg, J. H., Wang, J., Zhou, C., Yodh, A. G., 2004. Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation. *Optics Letters* 29 (15), 1766–1768.
- Fox, P. T., Raichle, M. E., 1986. Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83 (4), 1140–4.
- Fox, P. T., Raichle, M. E., Mintun, M. A., Dence, C., 1988. Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science* 241 (4864), 462–464.
- Friston, K., 2000. Nonlinear responses in fmri: The balloon model, volterra kernels, and other hemodynamics. *NeuroImage* 12 (4), 466–477.
- Friston, K., Stephan, K., Li, B., Daunizeau, J., 2010. Generalised filtering. *Mathematical Problems in Engineering* 2010, 1–35.
- Friston, K. J., 2002. Bayesian estimation of dynamical systems: an application to fmri. *NeuroImage* 16 (2), 513–530.
- Friston, K. J., Ashburner, J., Kiebel, S., Nichols, T., Penny, W., 2007. Statistical parametric mapping: the analysis of functional brain images.
- Friston, K. J., Trujillo-Barreto, N., Daunizeau, J., 2008. Dem: A variational treatment of dynamic systems. *NeuroImage* 41 (3), 849–885.
- Havlicek, M., Friston, K. J., Jan, J., Brazdil, M., Calhoun, V. D., 2011. Dynamic modeling of neuronal responses in fmri using cubature kalman filtering. *NeuroImage* 56 (4), 2109–2128.
- Havlicek, M., Jan, J., Brazdil, M., Calhoun, V. D., 2010. Dynamic granger causality based on kalman filter for evaluation of functional network connectivity in fmri data. *NeuroImage* 53 (1), 65–77.
- Huppert, T. J., Allen, M. S., Benav, H., Jones, P. B., Boas, D. A., 2007. A multicompartiment vascular model for inferring baseline and functional changes in cerebral oxygen metabolism and arterial dilation. *J Cereb Blood Flow Metab* 27 (6), 1262–79.
- Jones, M., Berwick, J., Johnston, D., Mayhew, J., 2001. Concurrent optical imaging spectroscopy and laser-doppler flowmetry: the relationship between blood flow, oxygenation, and volume in rodent barrel cortex. *Neuroimage* 13 (6 Pt 1), 1002–15.

- Kohl, M., Lindauer, U., Royl, G., Kuhl, M., Gold, L., Villringer, A., Dirnagl, U., 2000. Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals. *Phys Med Biol* 45 (12), 3749–64.
- Kwong, K. K., Belliveau, J. W., Chesler, D. A., Goldberg, I. E., Weisskoff, R. M., Poncelet, B. P., Kennedy, D. N., Hoppel, B. E., Cohen, M. S., Turner, R., 1992. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 89 (12), 5675–5679.
- Logothetis, N. K., 2002. The neural basis of the blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging signal. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 357 (1424), 1003–1037.
- Logothetis, N. K., 2003. The underpinnings of the bold functional magnetic resonance imaging signal. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23 (10), 3963–3971.
- Logothetis, N. K., Guggenberger, H., Peled, S., Pauls, J., 1999. Functional imaging of the monkey brain. *Nature Neuroscience* 2 (6), 555–562.
- Machado, A., Lina, J. M., Tremblay, J., Lassonde, M., Nguyen, D. K., Lesage, F., Grova, C., 2011. Detection of hemodynamic responses to epileptic activity using simultaneous electroencephalography (eeg)/near infra red spectroscopy (nirs) acquisitions. *NeuroImage* 56 (1), 114–125.
- Mandeville, J. B., Marota, J. J., Ayata, C., Zaharchuk, G., Moskowitz, M. A., Rosen, B. R., Weisskoff, R. M., 1999. Evidence of a cerebrovascular postarteriole windkessel with delayed compliance. *J Cereb Blood Flow Metab* 19 (6), 679–89.
- Martindale, J., Berwick, J., Martin, C., Kong, Y., Zheng, Y., Mayhew, J., 2005. Long duration stimuli and nonlinearities in the neural-haemodynamic coupling. *J Cereb Blood Flow Metab* 25 (5), 651–61.
- Mathiesen, C., Caesar, K., Akgoren, N., Lauritzen, M., 1998. Modification of activity-dependent increases of cerebral blood flow by excitatory synaptic activity and spikes in rat cerebellar cortex. *The Journal of Physiology* 512 (Pt 2), 555–566.
- Sirotnin, Y. B., Das, A., 2009. Anticipatory haemodynamic signals in sensory cortex not predicted by local neuronal activity. *Nature* 457 (7228), 475–479.
- Zheng, Y., Martindale, J., Johnston, D., Jones, M., Berwick, J., Mayhew, J., 2002. A model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *NeuroImage* 16 (3 Pt 1), 617–637.
- Zheng, Y., Mayhew, J., 2009. A time-invariant visco-elastic windkessel model relating blood flow and blood volume. *NeuroImage* 47 (4), 1371–1380.

Zheng, Y., Pan, Y., Harris, S., Billings, S., Coca, D., Berwick, J., Jones, M., Kennerley, A., Johnston, D., Martin, C., 2010. A dynamic model of neurovascular coupling: Implications for blood vessel dilation and constriction. *NeuroImage* 52 (3), 1135–1147.

CHAPITRE 8

DISCUSSION GÉNÉRALE

Les mesures de l'activité neuronale à travers la réponse hémodynamique sont utilisées maintenant depuis plus d'une décennie. Ces mesures, par leur caractère non invasif, ont permis de faire avancer la compréhension du fonctionnement du cerveau, permettant de quantifier et de localiser l'activité neuronale suite à une très grande variété de stimulations. Toutefois, on ne peut pas dire que ces techniques soient arrivées à leur maturité puisqu'elles existent dans les centres de recherche mais très peu se servent du couplage neurovasculaire comme outil de diagnostic.

D'une part, les données recueillies sont très bruitées, ce qui implique des enregistrements longs pour obtenir un bon RSB. D'autre part, même pour des personnes d'un même groupe d'âge, les réponses BOLD varient beaucoup entre les individus (Aguirre et al., 1998). Tant que les paramètres physiologiques influençant la réponse hémodynamique ne seront pas connus, il demeurera difficile d'utiliser la réponse hémodynamique comme outil de diagnostic. Toutefois, il est nécessaire de continuer la recherche dans ce domaine puisque les outils à notre disposition actuellement ne permettent pas d'obtenir une bonne mesure de l'activité neuronale.

8.1 Performance du montage

Avant d'effectuer l'analyse des données de vieillissement, il était nécessaire de construire un montage d'IOI adéquat. Le système construit permet d'enregistrer à une vitesse de 5 Hz les signaux lumineux provenant de 4 sources d'illumination différentes. La majorité des enregistrements ont été effectués avec une image ayant une dimension de 280·560 pixels. Avec le montage dans son état actuel, cela permet d'enregistrer sur presque toute la largeur du cerveau d'un rat et de part et d'autre de la région d'intérêt dans ce cerveau. Il est toujours possible que le système perde certaines images, mais le synchronisme est toujours conservé.

Simultanément à l'acquisition d'IOI, le montage permet de suivre 5 signaux physiologiques :

1. le rythme cardiaque : permet d'observer si les stimulations ont un effet physiologique ;
2. la pression artérielle : permet de suivre en partie le degré d'anesthésie de l'animal ;
3. la pression expiratoire : permet de suivre le rythme respiratoire et de suivre lorsque le rat effectue une respiration par lui-même ;
4. la température : permet de vérifier le bon fonctionnement du tapis chauffant ;

5. le CO₂ expiré.

Lorsqu'un animal est dans un état stable, les mesures physiologiques ne sont pas très utiles, par contre, elles sont très pertinentes pour tenter d'expliquer des changements inattendus dans la réponse hémodynamique au cours d'une expérience.

Malgré tous les ajustements effectués, il est difficile d'obtenir des valeurs de CO₂ expiré (end tidal CO₂) aussi basses que les valeurs habituelles mentionnées dans la littérature 5% expired CO₂ rat (Dunn et al., 2005; Devor et al., 2007). Par contre, des valeurs semblables à nos valeurs sont aussi utilisées 7% (Huttunen et al., 2008). Nos valeurs élevées peuvent peut-être s'expliquer par la position de la sonde de CO₂ dans l'embout trachéal qui n'est pas exactement positionné à la sortie de la trachée, dans ce cas, une mesure du pCO₂ serait très utile.

8.1.1 Diodes

Les diodes changent de longueur d'onde en fonction de la température. Ce résultat était visible dans les 30 premières secondes d'un enregistrement. Par la suite, les longueurs d'onde variaient seulement d'un ou deux nm. Toutefois, aucune mesure de contrôle n'est actuellement disponible dans le montage pour vérifier les fluctuations d'illumination en cours d'enregistrement.

Selon les équations reliant l'intensité de la lumière mesurée par le détecteur et les concentrations d'HbO et d'HbR (équation 3.2), il suffit d'effectuer les enregistrements avec deux longueurs d'onde pour retrouver les concentrations d'HbR et d'HbO. En pratique cependant, comme les propriétés d'absorption et les concentrations d'hémoglobine au repos ne sont pas connues avec précision, il est utile d'avoir plus de longueurs d'onde pour avoir un problème plus contraint et obtenir un meilleur estimé des changements de concentrations. Ainsi, Devor et al. (2008) utilisent 6 longueurs d'onde entre 560 et 610 nm, Sasaki et al. (2002) utilisent des longueurs d'onde de 605, 630, 730, 750, et 850 et Sato et al. (2002) mesurent un spectre complet entre 500 et 650 nm. Lors de la conception du montage, nous avons utilisé des diodes de longueur d'onde de 525, 590 et 637. Il aurait été intéressant d'avoir des diodes de longueurs d'onde intermédiaires. Elles n'étaient cependant pas disponibles sur le marché lors de la conception. Si des diodes haute intensité à ≈ 560 et ≈ 620 nm deviennent disponibles, il serait pertinent d'ajouter ces longueurs d'onde à notre montage pour reconstruire les concentrations d'HbO et d'HbR avec plus de précision. Par contre, les tests (non présents dans la thèse) comparant les changements de concentration obtenus avec 2 ou 3 longueurs d'onde ont donné des résultats assez similaires, ce qui indique que l'ajout d'autres longueurs d'onde apporterait un avantage limité.

8.1.2 Synchronisme

Le synchronisme des images est contrôlé par la caméra et a une précision de l'ordre de la ms. Pour ce qui est de la stimulation, celle-ci est générée à une fréquence de 10 kHz. Par contre, une erreur initiale dans le code a été repérée en fin de doctorat et le temps des stimulations a été sauvegardé avec une incertitude de ± 50 ms. Ce résultat a peu d'influence puisque la fréquence d'acquisition de chaque couleur est de 5 Hz, mais causerait des problèmes si on augmentait la fréquence d'acquisition du montage.

Les mesures électrophysiologiques sont enregistrées à 10 kHz. Lors de chaque stimulation électrique, un artéfact de stimulation est produit sur le signal électrophysiologique, cela permet de mesurer le temps de réponse, les MUA et les LFP avec une précision de 10 kHz malgré l'incertitude de ± 50 ms du temps de stimulation.

8.1.3 Électrophysiologie

Avec un préamplificateur adéquat, l'enregistrement du signal électrophysiologique ne pose pas de problème en soit si ce n'est les problèmes habituels des enregistrements électrophysiologiques. En utilisant une électrode de faible impédance, on capte seulement les signaux LFP (c'est ce qui s'est produit sur plusieurs rats utilisés). Pour les enregistrements avec des électrodes de haute impédance, le signal est très sensible au signal parasite provenant de l'alimentation électrique du laboratoire (60, 120, 180, ... Hz), si bien qu'il est difficile d'observer les réponses neuronales en direct à l'écran. Un post-traitement du signal dans le domaine de Fourier a permis d'éliminer la presque totalité de ces artéfacts (60, 120, 180, ... Hz) sans modifier de façon importante la forme de notre signal. L'ajout d'une cage de Faraday pourrait permettre d'observer le signal électrophysiologique en direct et simplifierait le post-traitement, mais compliquerait le montage et les manipulations de l'animal. Ainsi, la cage n'est pas nécessaire si on s'intéresse seulement au signal neuronal LFP.

8.2 Article #1

8.2.1 Physiologie

Dans le cadre du vieillissement, peu d'études ont tenté de mesurer les changements de réponses hémodynamiques avec l'âge. Les études d'IRM analysant habituellement les données avec une réponse hémodynamique canonique, il en existe peu qui suivent l'évolution temporelle de la réponse hémodynamique au cours du vieillissement.

Le premier article a décrit l'évolution de la réponse hémodynamique à plusieurs stades du vieillissement. Une première observation est une diminution de l'amplitude du changement

de débit et des changements d'hémoglobine avec l'âge. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus en IRM qui montrent une diminution du signal BOLD avec l'âge chez l'humain (Restom et al., 2007; Ances et al., 2009). Par contre, certaines études (D'Esposito et al., 1999) ont montré une plus grande variabilité des résultats avec l'âge chez l'humain, ce qui n'était pas observable dans nos résultats chez le rat.

Les amplitudes des réponses hémodynamiques diminuaient avec l'âge. Toutefois, en utilisant le montage d'IOI, nous avons pu mesurer les changements de plusieurs composantes hémodynamiques. Les résultats ont montré par exemple que le ratio HbO/HbR diminuait de façon significative avec l'âge. L'enregistrement de plusieurs composantes de la réponse hémodynamique a amené une plus grande compréhension de la dynamique vasculaire par rapport à des mesures du BOLD se basant uniquement sur la mesure de sang désoxygéné. Par contre, le résultat peut s'interpréter de deux façons ; soit il y a un changement dans le couplage neurovasculaire avec l'âge, soit les concentrations au repos de HbO et HbR sont modifiées avec l'âge. Le montage actuel ne permet malheureusement pas de répondre à cette question.

Une autre indication de la modification de la réponse hémodynamique avec l'âge est l'augmentation du délai de la réponse hémodynamique. Il est toutefois difficile de comparer ces résultats puisque peu de littérature existe montrant des courbes de réponses hémodynamiques en fonction du vieillissement. Nos résultats sont néanmoins similaires aux mesures de D'Esposito et al. (1999) en IRM chez l'humain montrant une augmentation du délai d'activation avec l'âge, même si cette augmentation n'était pas significatif. Richter and Richter (2003) montrent pour leur part un temps d'activation similaire, mais un temps de désactivation (retour à la ligne de base) plus grand pour les personnes âgées.

Les résultats montrent aussi une modification spatiale de la réponse neuronale où l'amplitude de la réponse hémodynamique est réduite seulement du côté du cerveau contralatéral à la stimulation. Solbakk et al. (2008) observent une augmentation de l'étendue spatiale de l'activation chez l'humain. Ces deux observations peuvent s'expliquer par une diminution de la réponse vasculaire maximale. Par contre, Raemaekers et al. (2006) observent en imagerie BOLD des changements du lieu d'activation en fonction de l'âge pour des stimulations visuelles. Farkas et al. (2006) observent des changements de la densité de la vasculature selon la région du cerveau, ce qui pourrait expliquer les changements du lieu d'activation en fonction de l'âge. D'un point de vue biochimique, plusieurs études montrent que le vieillissement affecte différemment la concentration de biomarqueur dans chaque hémisphère du cerveau. Ainsi, le côté dominant (habituellement le gauche) est plus affecté par l'Alzheimer que le côté droit) (Kristofikova et al., 2010, 2004; Toga and Thompson, 2003)

Tous ces résultats indiquent que, dans le cadre du vieillissement, les changements hémody-

dynamiques mesurés ne reflètent pas nécessairement les changements d'activité neuronale.

Le sujet d'étude utilisé, le rat LOU_{/C/RQRV}, est connu pour être un modèle réussi du vieillissement. Par contre, cela pourrait être un désavantage puisque les effets du vieillissement sont moins visibles. À cause de leur grande longévité, nous avons pu effectuer des expériences sur des rats beaucoup plus vieux que si nous avions utilisé des rats Wistar réguliers. De plus, le poids ayant de nombreux effets néfastes sur la santé, l'utilisation du rat LOU_{/C/RQRV} a permis d'étudier l'effet du vieillissement en éliminant certains effets confondants qui peuvent être introduits dans les mesures lorsque les animaux ont des poids (et des % adipeux) différents.

8.3 Article #2

L'aspect modélisation du travail a permis de donner de la substance et de faciliter l'interprétation des résultats obtenus chez le rat LOU_{/C/RQRV}. Encore une fois, le travail étant de nature exploratoire, un code Matlab de traitement a été développé. Le code est un ajout au modèle d'inversion non linéaire bayésien venant avec SPM (*Statistical Parametric Mapping*), un programme d'imagerie biomédicale largement utilisé dans la communauté. Les principaux ajouts ont été le développement du modèle Boas-Huppert s'intégrant à SPM et des ajouts permettant de comparer efficacement des modèles ayant des *a priori* différents ainsi que d'autres permettant de comparer des modèles en optimisant seulement certains paramètres. Cette approche est essentielle dans le cas du modèle de B-H vu le grand nombre de paramètres pouvant être modifiés simultanément.

8.3.1 Comparaison des modèles

La première partie de validation du modèle est très importante puisque les modèles biomécaniques présentés dans la littérature montrent habituellement des résultats obtenus sur un seul groupe de rat. Il était donc important de savoir si ces modèles pouvaient reproduire les changements de couplage neurovasculaire à différents stades du vieillissement. Les résultats ont montré qu'avec un nombre limité de paramètres, les trois modèles permettaient de bien reproduire nos différentes réponses hémodynamiques. Deux approches ont permis de comparer les différents modèles. L'erreur quadratique moyenne a permis de comparer la qualité de l'ajustement (*goodness of fit*) de nos modèles. De façon générale, les résultats suivent les attentes, soit qu'en augmentant le nombre de paramètres, la qualité de l'ajustement est meilleure. Toutefois, il n'y avait pas de différences significatives entre les différents modèles utilisés. Ces résultats ne sont donc pas le signe de la validité des modèles utilisés mais plutôt un signe que les modèles possèdent suffisamment de paramètres pour reproduire toutes les réponses hémodynamiques obtenues expérimentalement pour de courtes stimulations.

Les approches se basant sur l'entropie du système (log-évidence) ont aussi permis de comparer les trois modèles. Un résultat intéressant de l'étude est que les deux métriques utilisées pour quantifier l'erreur ne donnent pas de différence significative entre les trois modèles compte tenu de notre niveau de bruit. Le choix du modèle biomécanique devrait donc plus se baser sur le type de données que l'on veut extraire que sur le résultat de la log-évidence. Les modèles de B-F et de Z-M sont des modèles phénoménologiques permettant de reproduire les courbes hémodynamiques. Par contre, les valeurs telles que la fraction d'oxygène extraite E_0 et le temps de transit τ peuvent difficilement être rattachées aux propriétés physiologiques du cerveau puisque les concentrations de base ne sont pas connues.

Même s'il contient beaucoup de paramètres et repose sur plusieurs hypothèses, le modèle de B-H permet d'obtenir des valeurs aux repos. Ainsi, le modèle B-H ne permet pas d'obtenir de différence significative dans le volume de Windkessel en fonction de l'âge. Ce résultat justifie donc en partie l'hypothèse initiale à propos des concentrations de HbR et de HbO similaires pour chaque groupe d'âge.

Vu le nombre de paramètres disponibles, le plus grand avantage du modèle de B-H est la possibilité d'intégrer des mesures provenant d'autres modalités d'imagerie (OCT par exemple) dans un nouveau protocole expérimental. Il serait ainsi possible d'insérer des valeurs de volume et de longueur des vaisseaux sanguins dans le modèle pour obtenir de meilleures simulations.

8.3.2 Validation/Prédiction

Malgré des données assez bruitées, les enregistrements sur un modèle de vieillissement réussi montrent qu'il est possible d'extraire des propriétés physiologiques à partir des différents modèles biomécaniques. Les trois modèles montrent une augmentation du temps de transit τ avec l'âge, ce qui est en accord avec les résultats de la littérature (Kalaria, 1996; Ances et al., 2009). Le modèle de B-H montre une augmentation du temps de transit τ allant de pair avec une diminution du DSC au repos, si bien que le volume de Windkessel n'est pas affecté par l'âge. Ce résultat est en contradiction par rapport à une d'étude montrant une diminution de la densité vasculaire avec l'âge (Sonntag et al., 1997). Par contre, dans le modèle de B-H, le volume de Windkessel représente le volume contenu dans les capillaires et les veinules en excluant les artères. Jusqu'à maintenant, il n'a pas été démontré que ce volume est affecté par l'âge (Kalaria, 1996; Riddle et al., 2003).

Les trois modèles montrent une diminution de la compliance avec l'âge, ce qui est en accord avec les mesures du paramètre de Grubb's du premier article.

8.3.3 Pertinence

Les simulations effectuées ont permis de constater que plusieurs paramètres physiologiques peuvent être déterminés à l'aide de la modélisation de la réponse hémodynamique. Ces simulations montrent toutefois que lorsque l'on tient compte du bruit physiologique, l'identifiabilité des paramètres est grandement affectée. Les deux nouveaux paramètres ajoutés par le modèle de Z-M par rapport au modèle de B-H permettent de mieux reproduire leurs données expérimentales (Zheng and Mayhew, 2009). Ces paramètres, même s'ils augmentent la log-évidence (ou le critère d'Akaike dans le cas des travaux de Zheng and Mayhew (2009)), ne permettent pas de voir de différence significative entre les deux modèles compte tenue du bruit de nos mesures. Par contre, cet ajout augmente la variabilité des autres paramètres du modèle, si bien qu'il est plus difficile de d'observer des changements significatifs en fonction de l'âge.

Les résultats obtenus peuvent maintenant servir à d'autres études. La première partie de simulation des erreurs peut servir à déterminer le nombre de sujets nécessaires pour mesurer des différences significatives entre deux populations d'individus. Par exemple, il semble que même avec des données très peu bruitées, la modélisation ne permettra pas d'obtenir de bons estimés de la résistance artérielle au repos $R_{a,0}$.

L'étude du vieillissement chez le rat LOU_{/C} devrait permettre de mieux comprendre et interpréter les mesures BOLD. La figure 6.7 montre que l'augmentation du temps de transit en fonction de l'âge diminue l'amplitude de la réponse HbR et augmente la durée d'une réponse hémodynamique. Ainsi, la modification d'un seul paramètre hémodynamique pourrait expliquer des résultats observé chez l'humain comme une augmentation de la durée de la réponse hémodynamique (Richter and Richter, 2003) ou diminution du signal BOLD avec l'âge (Restom et al., 2007; Ances et al., 2009).

8.4 Article #3

8.4.1 Résultats de groupes

Initialement l'article #3 aurait dû porter sur l'étude de l'activité neuronale spontanée au cours du vieillissement. Toutefois, dans le but de conserver un message simple et cohérent, l'article #3 s'est limité à étudier un seul groupe de rats soit un groupe de rats Wistar. La qualité des enregistrements électrophysiologiques n'a pas permis d'obtenir un jeu de données suffisant pour effectuer des comparaisons de groupe. Malgré tout, les résultats obtenus permettent d'apporter un certain éclairage par rapport aux données présentées précédemment.

8.4.2 Oscillation

Les oscillations observées dans la réponse hémodynamique et associées aux ondes de Mayer peuvent représenter une réponse physiologique tout en étant le reflet des fluctuations de l'activité neuronale selon la fréquence des ondes de Mayer. Selon la littérature, les oscillations de l'activité neuronale suivant les ondes de Mayer s'observent principalement dans le tronc cérébral (Julien, 2006). L'article #3 a montré un découplage entre l'activité neuronale spontanée et la réponse hémodynamique mesurée, ce qui tend à confirmer que, dans nos expériences, les oscillations observées ne proviennent pas d'oscillations de l'activité cérébrale.

8.4.3 Contra-ipsi

Lors de la stimulation d'une patte avant, la réponse la plus forte se trouvait du côté contralatéral. Par contre, les résultats montrent presque toujours une réponse hémodynamique du côté ipsilatéral. Ce qui porte à croire à une forte interconnectivité entre la patte et le cortex sensori-moteur des deux côtés du cerveau. Dans ce troisième article, nous avons observé que la réponse hémodynamique (provenant d'activité neuronale induite ou spontanée) corrèle mieux avec les mesures locales obtenues à l'aide d'électrophysiologie qu'avec les mesures distales. Par contre, il y avait toujours une corrélation entre l'activité neuronale et la réponse hémodynamique contralatérale, ce qui suggère que les deux côtés du cerveau ne sont pas indépendants du point de vue de la réponse hémodynamique.

Ces résultats suivent les observations d'autres études utilisant des stimulations de la patte avant. Certaines d'entre elles montrent une réponse du côté ipsilatéral en IRM-f (Peeters, 2001) et à l'aide de colorant sensible au voltage (Mohajerani et al., 2011). Par contre, d'autres études montrent une activité mesurée en IRM-f seulement du côté contralatéral (Autio et al., 2011) ou bien une diminution de la réponse hémodynamique dans la partie ipsilatérale (Devor et al., 2007, 2008). Le couplage différent obtenu entre les deux hémisphères n'est pas encore expliqué et pourrait être causé par des différences de manipulations entre les différents groupes de chercheurs. Il faut donc demeurer prudent dans l'interprétation de ces résultats qui semblent être affectés par des paramètres extérieurs encore non identifiés.

Dans le cadre des études du vieillissement (articles 1 et 2), nous avons observé une forte réponse du côté ipsilatéral. Avec l'âge, l'amplitude de la réponse diminuait plus rapidement du côté contralatéral que du côté ipsilatéral. Une hypothèse posée était un changement local du couplage neurovasculaire. L'étude de l'activité neuronale spontanée pourrait permettre de déterminer le couplage entre les deux côtés du cerveau pour ainsi déterminer si les changements de réponse hémodynamique observés sont produits par des changements neuronaux ou neurovasculaires.

Cependant, le bruit élevé des mesures effectuées lors d'activité neuronale spontanée suggère de refaire des expériences en mesurant l'activité neuronale des deux côtés du cerveau pour déterminer précisément si les différences entre les deux hémisphères sont de nature neuronale ou neurovasculaire.

8.4.4 Caractérisation de l'erreur

Lors des études de la réponse hémodynamique en continu on observe par moment un fort découplage entre les changements de débit, de HbR et de HbT. Ces résultats ne sont évidemment pas disponibles lorsque l'on effectue des mesures moyennées. Par contre, l'algorithme SCKS suit la réponse hémodynamique à chaque instant, ce qui permet de déterminer les intervalles représentant une forte activité neuronale, mais permet aussi de déterminer lorsque la réponse hémodynamique ne suit pas un comportement régulier.

Cela pourrait indiquer que le cerveau est dans un état instable et pourrait être étudié dans des maladies telle l'épilepsie dans le but de détecter des crises. Dans le cadre du vieillissement, on sait que les personnes âgées ont une plus faible variabilité du rythme cardiaque au repos. D'Esposito et al. (2003) observe une plus grande variabilité et plus de bruit dans la réponse hémodynamique. Dans le premier article la variabilité ne semble pas être différente entre les groupes d'âges différents. Toutefois, les données ont été obtenues sur des données moyennées. Au lieu d'utiliser l'outil SCKS pour retrouver l'activité neuronale au repos, cet outil pourrait être utilisé pour étudier le couplage entre les différents paramètres de la réponse hémodynamique.

CHAPITRE 9

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

9.1 Synthèse des travaux

Les travaux effectués au cours de cette thèse ont permis de concevoir un montage d'imagerie optique intrinsèque permettant d'enregistrer simultanément les changements de concentration d'hémoglobine et les changements de débit sanguins. Le montage a ensuite été utilisé afin de suivre les changements de la réponse hémodynamique au cours du vieillissement.

Les travaux ont permis de constater que du point de vue de la réponse hémodynamique, le vieillissement diminue l'amplitude en plus d'augmenter le temps d'activation de la réponse hémodynamique. Le vieillissement semble aussi affecter la symétrie où la réponse du côté contralatéral diminue plus rapidement que du côté ipsilatéral à la stimulation.

Les travaux ont aussi permis de développer et d'étudier différents modèles biomécaniques de la réponse hémodynamique. Le choix du modèle est un compromis entre la complexité (nombre de paramètres) et la précision que l'on veut obtenir sur les paramètres. Ces modèles ont ainsi permis d'extraire des propriétés neurovasculaires et de constater que parmi celles-ci, la compliance (paramètre de Grubb) et le temps de transit sont modifiés significativement par l'âge. Ces résultats devraient permettre une meilleure modélisation de la réponse hémodynamique dans le cadre du vieillissement et ainsi permettre de mieux définir les expériences qui seront effectuées ultérieurement.

Finalement l'algorithme SCKS basé sur un filtre de Kalman a été utilisé pour simuler le couplage neurovasculaire en continu et non sur des données moyennées. Bien que l'algorithme performe bien pour retrouver l'activité neuronale stimulée, celui-ci performe moins bien pour ce qui est de l'activité neuronale spontanée. De plus, il semble que, dans le cas des signaux spontanés, il y ait une forte décorrélation entre les signaux électrophysiologiques et l'activité reconstruite indiquant qu'il faut faire très attention lorsque l'on étudie les signaux hors stimulation.

9.2 Limites de la solution proposée

Plusieurs limitations viennent compromettre l'interprétation des résultats obtenus et ce, à trois niveaux principaux : technique, physiologique et modélisation.

D'un point de vue technique, la stabilité de l'appareillage ne semblait pas être un problème. Par contre, le plus gros problème rencontré est du point de vue de la profondeur de

pénétration. Premièrement, les différentes longueurs d'onde n'explorent pas les mêmes régions du cerveau. Une correction de "path length factor" permet de corriger une partie de ce problème. Cependant, cette correction est seulement valable si on se trouve dans un milieu homogène. Ainsi, si la réponse hémodynamique se déroule en profondeur, seules les grandes longueurs d'onde détecteront ces changements, ce qui viendra fausser l'analyse des données. Un deuxième problème vient du parcours de la lumière avant de rejoindre le cortex. Selon les expériences, il arrive que l'os soit plus ou moins opaque. De plus, il est possible que du sang se retrouve entre le cortex et l'os. Il est aussi possible que les propriétés optiques du cortex changent selon les individus. Si ces changements étaient mesurables, il serait possible d'inclure ces valeurs dans nos calculs pour corriger nos mesures d'hémoglobine. Comme ces mesures n'ont pas été faites, nous devons faire l'hypothèse que ces valeurs sont équivalentes d'un individu à l'autre.

On suppose aussi que le tissu est uniforme. Par contre, les images anatomiques montrent qu'il y a beaucoup de vaisseaux sanguins dans la région imagée. Nous avons choisi de ne pas sélectionner une RI contenant des vaisseaux sanguins, toutefois ceux en profondeur n'ont pas pu être enlevés.

Du point de vue de la modélisation, nous avons introduit un facteur multiplicatif dans les calculs. Celui-ci a été intégré à tous les systèmes de modélisation et a permis de faire l'hypothèse que nous avons une plus faible concentration de sang oxygéné et désoxygéné dans le cortex. Ce facteur n'est pas rigoureux d'un point de vue scientifique mais il a permis d'avoir des données de modélisation qui concordent avec nos données expérimentales. Des études avec un autre système d'imagerie seront nécessaires pour déterminer la validité de ce facteur.

Comme il a été mentionné, certains animaux ne produisaient aucune réponse hémodynamique, tandis que d'autre avait des ratio HbO/HbR très différents des autres animaux d'un même groupe. Ces résultats n'ont pas été inclus dans les statistiques, mais ces problèmes indiquent que les enregistrements hémodynamiques ne sont pas totalement maîtrisés ce qui complique l'analyse des résultats en augmentant la variabilité à l'intérieur d'un groupe.

9.3 Améliorations futures

De nombreuses améliorations sont envisageables pour optimiser les enregistrements effectués en IOI. Comme il a été mentionné précédemment, pour avoir plus de chance que les animaux soient dans un même état physiologique, il serait nécessaire d'avoir un appareil d'oxymétrie performant pour s'assurer de l'oxygénation du rat pendant toute l'expérience et ainsi palier tout changement du degré d'anesthésie de l'animal.

Les autres améliorations envisageables pour le montage permettraient de mieux calibrer nos mesures hémodynamiques. La technique d'IOI ne permet pas de retrouver les concentrations et le DSC au repos et il y a de fortes chances que ces paramètres changent au cours du vieillissement. D'ici un court laps de temps, il sera possible d'effectuer des mesures de DSC à l'aide du montage d'OCT, d'obtenir des valeurs de débit sanguin absolue et des cartes 3D de la vasculature. Ces mesures devraient permettre de mieux calibrer nos enregistrements et le temps d'acquisition semble assez rapide pour ne pas trop complexifier les expériences.

Les outils développés dans Matlab au cours du doctorat sont surtout des outils exploratoires puisque qu'il était difficile de déterminer quel serait l'effet du vieillissement sur la réponse hémodynamique. Les prochaines expériences devront suivre une procédure plus systématique où l'expérience est conçue pour répondre à une hypothèse scientifique bien définie. De cette façon, il sera possible de déterminer à l'avance le traitement mathématique à appliquer sur nos données et d'utiliser des outils statistiques plus performants et standardisés, en l'occurrence SPM.

Les mesures de consommation d'oxygène obtenues supposent l'intégration de trois modalités d'imagerie simultanées. Les mesures locales de la consommation d'oxygène permettrait de mieux connaître les propriétés au repos de l'animal et d'améliorer la modélisation.

9.3.1 Expérience future

Les expériences effectuées au cours du doctorat ont permis d'observer les changements de la réponse hémodynamique de même que les changements de paramètres hémodynamiques (temps de transit et compliance) au cours du vieillissement.

Pour donner plus de puissance aux résultats obtenus dans le cadre du vieillissement, il serait intéressant d'enregistrer la réponse hémodynamique de modèles d'animaux où certains de ces paramètres ont été modifiés. La ligature temporaire d'une artère, l'ajout de substance vasodilatatrice, un changement de concentration de CO_2 ou une augmentation de l'activité neuronale au repos permettrait d'effectuer des mesures chez un même animal mais dans deux états neurovasculaires différents (différence de diamètre des vaisseaux ou du CMRO_2). Le fait d'enregistrer dans un même animal dans deux états différents permettrait d'éliminer une grande partie de la variabilité inter animaux et permettrait de valider plus facilement les modèles mathématiques.

Pour ce qui est de l'étude du vieillissement à l'aide de l'imagerie optique, nos travaux ont montré des changements de la réponse hémodynamique avec l'âge. Pour être en mesure de mieux comprendre les changements dans le couplage neurovasculaire et pouvoir mieux expliquer les différences observées dans cette étude, il serait intéressant de reproduire les mêmes mesures de débit sanguin, mais en ayant aussi des mesures de débit sanguin au repos,

de l'enregistrement électrophysiologique, des cartes d'activité neuronale à l'aide de colorant sensible aux voltages et une mesure de la géométrie 3D de la vasculature. Toutes ces méthodes seront bientôt disponible au laboratoire et permettront de faire des enregistrements complets éliminant beaucoup de l'incertitude de nos mesures.

Le nombreux enregistrements ont été effectués sur des rats avec ou sans restriction calorique. Ces résultats ont été très difficiles à analyser à cause de la très grande différence de masse et de pourcentage adipeux rendant le contrôle de l'anesthésie difficile. Le même phénomène se produit dans le cadre du vieillissement, le poids et l'état du rat change beaucoup avec l'âge. Il serait possible d'étudier le couplage neurovasculaire sur de modèles où le diabète ou l'Alzheimer ont été induit chimiquement, ce qui permettrait de mesurer le couplage neurovasculaire sur des animaux similaires.

Un des grand problème étant la variabilité entre les individus, il serait intéressant et peut être plus facile d'étudier le couplage neurovasculaire durant le vieillissement chez les souris. Puisque les souris vieillissent plus rapidement et que la chirurgie est beaucoup moins invasive, il serait possible d'imager les mêmes souris à plusieurs stade de vieillissement ce qui réduirait la variabilité des résultats. L'autre option serait de développer une technique de chirurgie permettant de mettre une fenêtre d'observation fixe et transparente sur le crâne du rat. Il serait ainsi possible d'imager le même rat à plusieurs jours d'intervalle.

Du point de vue de la modélisation, les modèles utilisés pourront rapidement être testés sur d'autres modèles animaux et aussi chez l'humain.

RÉFÉRENCES

- Aguirre, G. K., Zarahn, E., D'Esposito, M., 1998. The variability of human, bold hemodynamic responses. *Neuroimage* 8 (4), 360–9.
- Aizenstein, H. J., Clark, K. A., Butters, M. A., Cochran, J., Stenger, V. A., Meltzer, C. C., Reynolds, C. F., Carter, C. S., 2004. The bold hemodynamic response in healthy aging. *Journal of Cognitive Neuroscience* 16 (5), 786–793.
- Ajmani, R. S., Metter, E. J., Jaykumar, R., Ingram, D. K., Spangler, E. L., Abugo, O. O., Rifkind, J. M., 2000. Hemodynamic changes during aging associated with cerebral blood flow and impaired cognitive function. *Neurobiol Aging* 21 (2), 257–69.
- Alliot, J., Boghossian, S., Jourdan, D., Veyrat-Durebex, C., Pickering, G., Meynial-Denis, D., Gaumet, N., 2002. The lou/c/jall rat as an animal model of healthy aging? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57 (8), B312–20.
- Ances, B., Vaida, F., Yeh, M., Liang, C., Buxton, R., Letendre, S., McCutchan, J. Â., Ellis, R., 2010. Hiv infection and aging independently affect brain function as measured by functional magnetic resonance imaging. *The Journal of Infectious Diseases* 201 (3), 336–340.
- Ances, B. M., Greenberg, J. H., Detre, J. A., 2001. The effects of graded hypercapnia on the activation flow coupling response due to forepaw stimulation in alpha-chloralose anesthetized rats. *Brain Res* 911 (1), 82–8.
- Ances, B. M., Liang, C. L., Leontiev, O., Perthen, J. E., Fleisher, A. S., Lansing, A. E., Buxton, R. B., 2009. Effects of aging on cerebral blood flow, oxygen metabolism, and blood oxygenation level dependent responses to visual stimulation. *Hum Brain Mapp* 30 (4), 1120–32.
- Anson, R. M., Guo, Z., de Cabo, R., Iyun, T., Rios, M., Hagepanos, A., Ingram, D. K., Lane, M. A., Mattson, M. P., 2003. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (10), 6216–20.
- Arasaratnam, I., Haykin, S., 2009. Cubature kalman filters. *IEEE Transactions on Automatic Control* 54 (6), 1254–1269.
- Argandona, E. G., Lafuente, J. V., 2000. Influence of visual experience deprivation on the postnatal development of the microvascular bed in layer iv of the rat visual cortex. *Brain Res* 855 (1), 137–42.

- Asllani, I., Habeck, C., Borogovac, A., Brown, T. R., Brickman, A. M., Stern, Y., 2009. Separating function from structure in perfusion imaging of the aging brain. *Human Brain Mapping* 30 (9), 2927–2935.
- Aubert, A., Costalat, R., Valabregue, R., 2001. Modelling of the coupling between brain electrical activity and metabolism. *Acta Biotheoretica* 49 (4), 301–326.
- Autio, J. A. A., Kershaw, J., Shibata, S., Obata, T., Kanno, I., Aoki, I., 2011. High b-value diffusion-weighted fmri in a rat forepaw electrostimulation model at 7t. *NeuroImage* 57 (1), 140–148.
- Ayata, C., Dunn, A. K., Gursoy, O. Y., Huang, Z., Boas, D. A., Moskowitz, M. A., 2004. Laser speckle flowmetry for the study of cerebrovascular physiology in normal and ischemic mouse cortex. *J Cereb Blood Flow Metab* 24 (7), 744–55.
- Behzadi, Y., Liu, T. T., 2005. An arteriolar compliance model of the cerebral blood flow response to neural stimulus. *Neuroimage* 25 (4), 1100–11.
- Bentourkia, M., Bol, A., Ivanoiu, A., Labar, D., Sibomana, M., Coppens, A., Michel, C., Cosnard, G., De Volder, A. G., 2000. Comparison of regional cerebral blood flow and glucose metabolism in the normal brain : effect of aging. *Journal of the Neurological Sciences* 181 (1-2), 19–28.
- Berwick, J., Johnston, D., Jones, M., Martindale, J., Redgrave, P., McLoughlin, N., Schiessl, I., Mayhew, J. E., 2005. Neurovascular coupling investigated with two-dimensional optical imaging spectroscopy in rat whisker barrel cortex. *Eur J Neurosci* 22 (7), 1655–66.
- Biagi, L., Abbruzzese, A., Bianchi, M. C., Alsop, D. C., Del Guerra, A., Tosetti, M., 2007. Age dependence of cerebral perfusion assessed by magnetic resonance continuous arterial spin labeling. *Journal of Magnetic Resonance Imaging : JMRI* 25 (4), 696–702.
- Boas, D. A., Jones, S. R., Devor, A., Huppert, T. J., Dale, A. M., 2008. A vascular anatomical network model of the spatio-temporal response to brain activation. *NeuroImage* 40 (3), 1116–1129.
- Boas, D. A., Strangman, G., Culver, J. P., Hoge, R. D., Jaszewski, G., Poldrack, R. A., Rosen, B. R., Mandeville, J. B., 2003. Can the cerebral metabolic rate of oxygen be estimated with near-infrared spectroscopy? *Physics in Medicine and Biology* 48 (15), 2405–2418.
- Bonvento, G., Charbonne, R., Correze, J. L., Borredon, J., Seylaz, J., Lacombe, P., 1994. Is alpha-chloralose plus halothane induction a suitable anesthetic regimen for cerebrovascular research? *Brain Res* 665 (2), 213–21.
- Briers, J. D., 2001. Laser doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas* 22 (4), R35–66.

- Briers, J. D., Richards, G., He, X. W., 1999. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (lasca). *Journal of Biomedical Optics* 4 (1), 164–164.
- Buckner, R. L., Snyder, A. Z., Sanders, A. L., Raichle, M. E., Morris, J. C., 2000. Functional brain imaging of young, nondemented, and demented older adults. *Journal of Cognitive Neuroscience* 12 Suppl 2, 24–34.
- Burns, A., Tyrrell, P., 1992. Association of age with regional cerebral oxygen utilization : a positron emission tomography study. *Age and Ageing* 21 (5), 316–320.
- Buxton, R. B., 2001. The elusive initial dip. *NeuroImage* 13 (6 Pt 1), 953–958.
- Buxton, R. B., Frank, L. R., 1997. A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 17 (1), 64–72.
- Buxton, R. B., Uludag, K., Dubowitz, D. J., Liu, T. T., 2004. Modeling the hemodynamic response to brain activation. *NeuroImage* 23 Suppl 1, S220–233–S220–233.
- Buxton, R. B., Wong, E. C., Frank, L. R., 1998. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation : the balloon model. *Magn Reson Med* 39 (6), 855–64.
- Cabeza, R., 2002. Hemispheric asymmetry reduction in older adults : the harold model. *Psychology and Aging* 17 (1), 85–100.
- Cada, A., de la Torre, J. C., Gonzalez-Lima, F., 2000. Chronic cerebrovascular ischemia in aged rats : effects on brain metabolic capacity and behavior. *Neurobiol Aging* 21 (2), 225–33.
- Cauli, B., Tong, X.-K., Rancillac, A., Serluca, N., Lambolez, B., Rossier, J., Hamel, E., 2004. Cortical gaba interneurons in neurovascular coupling : relays for subcortical vasoactive pathways. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 24 (41), 8940–8949.
- Crawford, J. G., 1998. Alzheimer's disease risk factors as related to cerebral blood flow : additional evidence. *Med Hypotheses* 50 (1), 25–36.
- Culver, J. P., Durduran, T., Furuya, D., Cheung, C., Greenberg, J. H., Yodh, A. G., 2003. Diffuse optical tomography of cerebral blood flow, oxygenation, and metabolism in rat during focal ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 23 (8), 911–924.
- David-Jurgens, M., Churs, L., Berkefeld, T., Zepka, R. F., Dinse, H. R., 2008. Differential effects of aging on fore- and hindpaw maps of rat somatosensory cortex. *PloS One* 3 (10), e3399–e3399.
- de la Torre, J. C., 2000. Cerebral hypoperfusion, capillary degeneration, and development of alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 14 Suppl 1 (1), S72–81.
- Deneux, T., Faugeras, O., 2006. Using nonlinear models in fmri data analysis : model selection and activation detection. *NeuroImage* 32 (4), 1669–1689.

- D'Esposito, M., Deouell, L. Y., Gazzaley, A., 2003. Alterations in the bold fmri signal with ageing and disease : a challenge for neuroimaging. *Nat Rev Neurosci* 4 (11), 863–72.
- D'Esposito, M., Zarahn, E., Aguirre, G. K., Rypma, B., 1999. The effect of normal aging on the coupling of neural activity to the bold hemodynamic response. *Neuroimage* 10 (1), 6–14.
- Devor, A., Dunn, A. K., Andermann, M. L., Ulbert, I., Boas, D. A., Dale, A. M., 2003. Coupling of total hemoglobin concentration, oxygenation, and neural activity in rat somatosensory cortex. *Neuron* 39 (2), 353–9.
- Devor, A., Hillman, E. M., Tian, P., Waeber, C., Teng, I. C., Ruvinskaya, L., Shalinsky, M. H., Zhu, H., Haslinger, R. H., Narayanan, S. N., Ulbert, I., Dunn, A. K., Lo, E. H., Rosen, B. R., Dale, A. M., Kleinfeld, D., Boas, D. A., 2008. Stimulus-induced changes in blood flow and 2-deoxyglucose uptake dissociate in ipsilateral somatosensory cortex. *J Neurosci* 28 (53), 14347–57.
- Devor, A., Tian, P., Nishimura, N., Teng, I. C., Hillman, E. M., Narayanan, S. N., Ulbert, I., Boas, D. A., Kleinfeld, D., Dale, A. M., 2007. Suppressed neuronal activity and concurrent arteriolar vasoconstriction may explain negative blood oxygenation level-dependent signal. *J Neurosci* 27 (16), 4452–9.
- Dickinson, C. J., 2001. Why are strokes related to hypertension? classic studies and hypotheses revisited. *Journal of Hypertension* 19 (9), 1515–1521.
- Dickstein, D. L., Walsh, J., Brautigam, H., Stockton, S. D., J., Gandy, S., Hof, P. R., 2010. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med* 77 (1), 82–102.
- Drake, C. T., Iadecola, C., 2007. The role of neuronal signaling in controlling cerebral blood flow. *Brain Lang* 102 (2), 141–52.
- Driscoll, I., Howard, S., Stone, J., Monfils, M., Tomanek, B., Brooks, W., Sutherland, R., 2006. The aging hippocampus : A multi-level analysis in the rat. *Neuroscience* 139 (4), 1173–1185.
- Dubeau, S., Desjardins, M., Pouliot, P., Beaumont, E., Gaudreau, P., Ferland, G., Lesage, F., 2011a. Biophysical model estimation of neurovascular parameters in a rat model of healthy aging. *NeuroImage* 57 (4), 1480–1491.
- Dubeau, S., Ferland, G., Gaudreau, P., Beaumont, E., Lesage, F., 2011b. Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the lou/c rat : A model of healthy aging. *NeuroImage* 56 (4), 1892–1901.

- Duncan, A., Meek, J. H., Clemence, M., Elwell, C. E., Fallon, P., Tyszczuk, L., Cope, M., Delpy, D. T., 1996. Measurement of cranial optical path length as a function of age using phase resolved near infrared spectroscopy. *Pediatric Research* 39 (5), 889–894.
- Duncan, D. D., Kirkpatrick, S. J., 2008. Can laser speckle flowmetry be made a quantitative tool? *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 25 (8), 2088–94.
- Dunn, A. K., Bolay, H., Moskowitz, M. A., Boas, D. A., 2001. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab* 21 (3), 195–201.
- Dunn, A. K., Devor, A., Bolay, H., Andermann, M. L., Moskowitz, M. A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2003. Simultaneous imaging of total cerebral hemoglobin concentration, oxygenation, and blood flow during functional activation. *Opt Lett* 28 (1), 28–30.
- Dunn, A. K., Devor, A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2005. Spatial extent of oxygen metabolism and hemodynamic changes during functional activation of the rat somatosensory cortex. *Neuroimage* 27 (2), 279–90.
- Duque, G., Rivas, D., Li, W., Li, A., Henderson, J. E., Ferland, G., Gaudreau, P., 2009. Age-related bone loss in the lou/c rat model of healthy ageing. *Exp Gerontol* 44 (3), 183–9.
- Durduran, T., Burnett, M. G., Yu, G., Zhou, C., Furuya, D., Yodh, A. G., Detre, J. A., Greenberg, J. H., 2004a. Spatiotemporal quantification of cerebral blood flow during functional activation in rat somatosensory cortex using laser-speckle flowmetry. *J Cereb Blood Flow Metab* 24 (5), 518–25.
- Durduran, T., Yu, G., Burnett, M. G., Detre, J. A., Greenberg, J. H., Wang, J., Zhou, C., Yodh, A. G., 2004b. Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation. *Optics Letters* 29 (15), 1766–1768.
- Eppinger, B., Kray, J., Mecklinger, A., John, O., 2007. Age differences in task switching and response monitoring : evidence from erps. *Biological Psychology* 75 (1), 52–67.
- Erkinjuntti, T., Gauthier, S., 2009. The concept of vascular cognitive impairment. *Frontiers of Neurology and Neuroscience* 24, 79–85.
- Facchetti, F., Monzani, E., Cavallini, G., Bergamini, E., La Porta, C. A., 2007. Effect of a caloric restriction regimen on the angiogenic capacity of aorta and on the expression of endothelin-1 during ageing. *Exp Gerontol* 42 (7), 662–7.
- Fang, Q., Sakadzic, S., Ruvinskaya, L., Devor, A., Dale, A. M., Boas, D. A., 2008. Oxygen advection and diffusion in a three- dimensional vascular anatomical network. *Optics Express* 16 (22), 17530–17541.

- Faraci, F. M., Baumbach, G. L., Heistad, D. D., 1990. Cerebral circulation : humoral regulation and effects of chronic hypertension. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1 (1), 53–57.
- Farkas, E., de Vos, R. A., Donka, G., Jansen Steur, E. N., Mihaly, A., Luiten, P. G., 2006. Age-related microvascular degeneration in the human cerebral periventricular white matter. *Acta Neuropathol* 111 (2), 150–7.
- Farkas, E., Luiten, P. G., 2001. Cerebral microvascular pathology in aging and alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 64 (6), 575–611.
- Fercher, A., Briers, J., 1981. Flow visualization by means of single-exposure speckle photography. *Optics Communications* 37 (5), 326–329.
- Ferguson, M., Sohal, B. H., Forster, M. J., Sohal, R. S., 2007. Effect of long-term caloric restriction on oxygen consumption and body temperature in two different strains of mice. *Mech Ageing Dev* 128 (10), 539–45.
- Fladby, T., Bryhn, G., Halvorsen, O., Rose, I., Wahlund, M., Wiig, P., Wetterberg, L., 2004. Olfactory response in the temporal cortex of the elderly measured with near-infrared spectroscopy : a preliminary feasibility study. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 24 (6), 677–680.
- Forrester, K. R., Tulip, J., Leonard, C., Stewart, C., Bray, R. C., 2004. A laser speckle imaging technique for measuring tissue perfusion. *IEEE Trans Biomed Eng* 51 (11), 2074–84.
- Fox, P. T., Raichle, M. E., 1986. Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83 (4), 1140–4.
- Fox, P. T., Raichle, M. E., Mintun, M. A., Dence, C., 1988. Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science* 241 (4864), 462–464.
- Franceschini, M. A., Nissila, I., Wu, W., Diamond, S. G., Bonmassar, G., Boas, D. A., 2008. Coupling between somatosensory evoked potentials and hemodynamic response in the rat. *NeuroImage* 41 (2), 189–203.
- Franceschini, M. A., Radhakrishnan, H., Thakur, K., Wu, W., Ruvinskaya, S., Carp, S., Boas, D. A., 2010. The effect of different anesthetics on neurovascular coupling. *NeuroImage* 51 (4), 1367–1377.
- Friston, K., 2000. Nonlinear responses in fmri : The balloon model, volterra kernels, and other hemodynamics. *NeuroImage* 12 (4), 466–477.

- Friston, K., Stephan, K., Li, B., Daunizeau, J., 2010. Generalised filtering. *Mathematical Problems in Engineering* 2010, 1–35.
- Friston, K. J., 2002. Bayesian estimation of dynamical systems : an application to fmri. *NeuroImage* 16 (2), 513–530.
- Friston, K. J., Ashburner, J., Kiebel, S., Nichols, T., Penny, W., 2007. Statistical parametric mapping : the analysis of functional brain images.
- Friston, K. J., Josephs, O., Rees, G., Turner, R., 1998. Nonlinear event-related responses in fmri. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 39 (1), 41–52.
- Friston, K. J., Trujillo-Barreto, N., Daunizeau, J., 2008. Dem : A variational treatment of dynamic systems. *NeuroImage* 41 (3), 849–885.
- Frostig, R. D., Lieke, E. E., Ts'o, D. Y., Grinvald, A., 1990. Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 (16), 6082–6.
- Gatto, R., Hoffman, W. E., Mueller, M., Paisansathan, C., Charbel, F., 2007. Age effects on brain oxygenation during hypercapnia. *J Biomed Opt* 12 (6), 62113.
- Gibson, A. P., Hebden, J. C., Arridge, S. R., 2005. Recent advances in diffuse optical imaging. *Physics in Medicine and Biology* 50 (4), R1–43–R1–43.
- Girouard, H., Bonev, A. D., Hannah, R. M., Meredith, A., Aldrich, R. W., Nelson, M. T., 2010. Astrocytic endfoot ca^{2+} and bk channels determine both arteriolar dilation and constriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (8), 3811–3816.
- Girouard, H., Iadecola, C., 2006. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and alzheimer disease. *J Appl Physiol* 100 (1), 328–35.
- Girouard, H., Park, L., Anrather, J., Zhou, P., Iadecola, C., 2006. Angiotensin ii attenuates endothelium-dependent responses in the cerebral microcirculation through nox-2-derived radicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26 (4), 826–32.
- Glover, G. H., 1999. Deconvolution of impulse response in event-related bold fmri. *NeuroImage* 9 (4), 416–429.
- Godde, B., Berkefeld, T., David-Jurgens, M., Dinse, H. R., 2002. Age-related changes in primary somatosensory cortex of rats : evidence for parallel degenerative and plastic-adaptive processes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 26 (7), 743–752.
- Gordon, G. R., Choi, H. B., Rungta, R. L., Ellis-Davies, G. C., MacVicar, B. A., 2008. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature* 456 (7223), 745–9.

- Gray, C. M., Maldonado, P. E., Wilson, M., McNaughton, B., 1995. Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. *Journal of Neuroscience Methods* 63 (1-2), 43–54.
- Grill, J. D., Riddle, D. R., 2002. Age-related and laminar-specific dendritic changes in the medial frontal cortex of the rat. *Brain Res* 937 (1-2), 8–21.
- Grubb, R. L., J., Raichle, M. E., Eichling, J. O., Ter-Pogossian, M. M., 1974. The effects of changes in paco₂ on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time. *Stroke* 5 (5), 630–9.
- Gsell, W., De Sadeleer, C., Marchalant, Y., MacKenzie, E. T., Schumann, P., Dauphin, F., 2000. The use of cerebral blood flow as an index of neuronal activity in functional neuroimaging : experimental and pathophysiological considerations. *J Chem Neuroanat* 20 (3-4), 215–24.
- Guo, Z., Mitchell-Raymundo, F., Yang, H., Ikeno, Y., Nelson, J., Diaz, V., Richardson, A., Reddick, R., 2002. Dietary restriction reduces atherosclerosis and oxidative stress in the aorta of apolipoprotein e-deficient mice. *Mech Ageing Dev* 123 (8), 1121–31.
- Hajdu, M. A., Heistad, D. D., Siems, J. E., Baumbach, G. L., 1990. Effects of aging on mechanics and composition of cerebral arterioles in rats. *Circulation Research* 66 (6), 1747–1754.
- Hajdu, M. A., McElmurry, R. T., Heistad, D. D., Baumbach, G. L., 1993. Effects of aging on cerebral vascular responses to serotonin in rats. *The American Journal of Physiology* 264 (6 Pt 2), H2136–2140–H2136–2140.
- Handwerker, D. A., Gazzaley, A., Inglis, B. A., D’Esposito, M., 2007. Reducing vascular variability of fmri data across aging populations using a breathholding task. *Human Brain Mapping* 28 (9), 846–859.
- Hashimoto, J., Ito, S., 2009. Some mechanical aspects of arterial aging : physiological overview based on pulse wave analysis. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease* 3 (5), 367–378.
- Havlicek, M., Friston, K. J., Jan, J., Brazdil, M., Calhoun, V. D., 2011. Dynamic modeling of neuronal responses in fmri using cubature kalman filtering. *NeuroImage* 56 (4), 2109–2128.
- Havlicek, M., Jan, J., Brazdil, M., Calhoun, V. D., 2010. Dynamic granger causality based on kalman filter for evaluation of functional network connectivity in fmri data. *NeuroImage* 53 (1), 65–77.
- Haydon, P. G., Carmignoto, G., 2006. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. *Physiol Rev* 86 (3), 1009–31.

- He, Z., Ibayashi, S., Sugimori, H., Fujii, K., Sadoshima, S., Fujishima, M., 1997. Age-related ischemia in the brain following bilateral carotid artery occlusion-collateral blood flow and brain metabolism. *Neurochemical Research* 22 (1), 37–42.
- Heeger, D. J., Ress, D., 2002. What does fmri tell us about neuronal activity? *Nat Rev Neurosci* 3 (2), 142–51.
- Heilbronn, L. K., Ravussin, E., 2003. Calorie restriction and aging : review of the literature and implications for studies in humans. *Am J Clin Nutr* 78 (3), 361–9.
- Henry-Feugeas, M. C., Onen, F., Claeys, E. S., 2008. Classifying late-onset dementia with mri : is arteriosclerotic brain degeneration the most common cause of alzheimer’s syndrome? *Clinical Interventions in Aging* 3 (1), 187–199.
- Heo, S., Prakash, R. S., Voss, M. W., Erickson, K. I., Ouyang, C., Sutton, B. P., Kramer, A. F., 2010. Resting hippocampal blood flow, spatial memory and aging. *Brain Research* 1315, 119–127.
- Herrmann, M. J., Walter, A., Ehlis, A. C., Fallgatter, A. J., 2006. Cerebral oxygenation changes in the prefrontal cortex : effects of age and gender. *Neurobiology of Aging* 27 (6), 888–894.
- Hewson-Stoate, N., Jones, M., Martindale, J., Berwick, J., Mayhew, J., 2005. Further non-linearities in neurovascular coupling in rodent barrel cortex. *Neuroimage* 24 (2), 565–74.
- Hillman, E. M., 2007. Optical brain imaging in vivo : techniques and applications from animal to man. *J Biomed Opt* 12 (5), 051402.
- Hillman, E. M., Devor, A., Bouchard, M. B., Dunn, A. K., Krauss, G. W., Skoch, J., Bacsikai, B. J., Dale, A. M., Boas, D. A., 2007. Depth-resolved optical imaging and microscopy of vascular compartment dynamics during somatosensory stimulation. *Neuroimage* 35 (1), 89–104.
- Hoge, R. D., Franceschini, M. A., Covolan, R. J. M., Huppert, T., Mandeville, J. B., Boas, D. A., 2005. Simultaneous recording of task-induced changes in blood oxygenation, volume, and flow using diffuse optical imaging and arterial spin-labeling mri. *NeuroImage* 25 (3), 701–707.
- Hoshi, Y., Tamura, M., 1993. Dynamic multichannel near-infrared optical imaging of human brain activity. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md. : 1985) 75 (4), 1842–1846.
- Huettel, S. A., Singerman, J. D., McCarthy, G., 2001. The effects of aging upon the hemodynamic response measured by functional mri. *NeuroImage* 13 (1), 161–175.
- Huppert, T. J., Allen, M. S., Benav, H., Jones, P. B., Boas, D. A., 2007. A multicompartiment vascular model for inferring baseline and functional changes in cerebral oxygen metabolism and arterial dilation. *J Cereb Blood Flow Metab* 27 (6), 1262–79.

- Huppert, T. J., Jones, P. B., Devor, A., Dunn, A. K., Teng, I. C., Dale, A. M., Boas, D. A., 2009. Sensitivity of neural-hemodynamic coupling to alterations in cerebral blood flow during hypercapnia. *Journal of Biomedical Optics* 14 (4), 044038–044038.
- Huttunen, J. K., Grohn, O., Penttonen, M., 2008. Coupling between simultaneously recorded bold response and neuronal activity in the rat somatosensory cortex. *NeuroImage* 39 (2), 775–785.
- Hyder, F., Shulman, R. G., Rothman, D. L., 1998. A model for the regulation of cerebral oxygen delivery. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md. : 1985) 85 (2), 554–564.
- Iadecola, C., 2004. Neurovascular regulation in the normal brain and in alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 5 (5), 347–60.
- Iadecola, C., 2010. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathologica* 120 (3), 287–296.
- Iadecola, C., Nedergaard, M., 2007. Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci* 10 (11), 1369–76.
- Iadecola, C., Park, L., Capone, C., 2009. Threats to the mind : Aging, amyloid, and hypertension. *Stroke* 40 (3, Supplement 1), S40–S44.
- Ishii, K., Kitagaki, H., Kono, M., Mori, E., 1996. Decreased medial temporal oxygen metabolism in alzheimer's disease shown by pet. *Journal of Nuclear Medicine : Official Publication, Society of Nuclear Medicine* 37 (7), 1159–1165.
- Jennings, J. R., Muldoon, M. F., Ryan, C., Price, J. C., Greer, P., Sutton-Tyrrell, K., van der Veen, F. M., Meltzer, C. C., 2005. Reduced cerebral blood flow response and compensation among patients with untreated hypertension. *Neurology* 64 (8), 1358–1365.
- Jiang, H. X., Chen, P. C., Sobin, S. S., Giannotta, S. L., 1992. Age related alterations in the response of the pial arterioles to adenosine in the rat. *Mechanisms of Ageing and Development* 65 (2-3), 257–276.
- Jones, M., Berwick, J., Johnston, D., Mayhew, J., 2001. Concurrent optical imaging spectroscopy and laser-doppler flowmetry : the relationship between blood flow, oxygenation, and volume in rodent barrel cortex. *Neuroimage* 13 (6 Pt 1), 1002–15.
- Jones, M., Berwick, J., Mayhew, J., 2002. Changes in blood flow, oxygenation, and volume following extended stimulation of rodent barrel cortex. *Neuroimage* 15 (3), 474–87.
- Jones, P. B., Shin, H. K., Boas, D. A., Hyman, B. T., Moskowitz, M. A., Ayata, C., Dunn, A. K., 2008. Simultaneous multispectral reflectance imaging and laser speckle flowmetry of cerebral blood flow and oxygen metabolism in focal cerebral ischemia. *J Biomed Opt* 13 (4), 044007.

- Juergens, E., Guettler, A., Eckhorn, R., 1999. Visual stimulation elicits locked and induced gamma oscillations in monkey intracortical- and eeg-potentials, but not in human eeg. *Experimental Brain Research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation Cerebrale* 129 (2), 247–259.
- Julien, C., 2006. The enigma of mayer waves : Facts and models. *Cardiovascular Research* 70 (1), 12–21.
- Kalaria, R. N., 1996. Cerebral vessels in ageing and alzheimer's disease. *Pharmacology and Therapeutics* 72 (3), 193–214.
- Kappeler, L., Zizzari, P., Alliot, J., Epelbaum, J., Bluet-Pajot, M.-T., 2004. Delayed age-associated decrease in growth hormone pulsatile secretion and increased orexigenic peptide expression in the *lou c/jall* rat. *Neuroendocrinology* 80 (5), 273–283.
- Kato, H., Izumiyama, M., Koizumi, H., Takahashi, A., Itoyama, Y., 2002. Near-infrared spectroscopic topography as a tool to monitor motor reorganization after hemiparetic stroke : a comparison with functional mri. *Stroke ; a Journal of Cerebral Circulation* 33 (8), 2032–2036.
- Kawamura, H., Sugiyama, T., Wu, D. M., Kobayashi, M., Yamanishi, S., Katsumura, K., Puro, D. G., 2003. Atp : a vasoactive signal in the pericyte-containing microvasculature of the rat retina. *The Journal of Physiology* 551 (Pt 3), 787–799.
- Kazama, K., Wang, G., Frys, K., Anrather, J., Iadecola, C., 2003. Angiotensin ii attenuates functional hyperemia in the mouse somatosensory cortex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285 (5), H1890–9.
- Kida, I., Kennan, R. P., Rothman, D. L., Behar, K. L., Hyder, F., 2000. High-resolution cmr(o2) mapping in rat cortex : a multiparametric approach to calibration of bold image contrast at 7 tesla. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 20 (5), 847–860.
- Kocsis, L., Herman, P., Eke, A., 2006. Mathematical model for the estimation of hemodynamic and oxygenation variables by tissue spectroscopy. *J Theor Biol* 241 (2), 262–75.
- Kohl, M., Lindauer, U., Rojl, G., Kuhl, M., Gold, L., Villringer, A., Dirnagl, U., 2000. Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals. *Phys Med Biol* 45 (12), 3749–64.
- Kollen, M., Stephan, A., Faivre-Bauman, A., Loudes, C., Sinet, P. M., Alliot, J., Billard, J. M., Epelbaum, J., Dutar, P., Jouvenceau, A., 2010. Preserved memory capacities in aged *lou/c/jall* rats. *Neurobiology of Aging* 31 (1), 129–142.
- Kristofikova, Z., Ricny, J., Ort, M., Ripova, D., 2010. Aging and lateralization of the rat brain on a biochemical level. *Neurochemical Research* 35 (8), 1138–1146.

- Kristofikova, Z., Stastny, F., Bubenikova, V., Druga, R., Klaschka, J., Spaniel, F., 2004. Age- and sex-dependent laterality of rat hippocampal cholinergic system in relation to animal models of neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Neurochemical Research* 29 (4), 671–680.
- Kuchibhotla, K. V., Lattarulo, C. R., Hyman, B. T., Bacskaï, B. J., 2009. Synchronous hyperactivity and intercellular calcium waves in astrocytes in alzheimer mice. *Science (New York, N.Y.)* 323 (5918), 1211–1215.
- Kuschinsky, W., Wahl, M., Bosse, O., Thürau, K., 1972. Perivascular potassium and pH as determinants of local pial arterial diameter in cats. a microapplication study. *Circulation Research* 31 (2), 240–247.
- Kwong, K. K., Belliveau, J. W., Chesler, D. A., Goldberg, I. E., Weisskoff, R. M., Poncelet, B. P., Kennedy, D. N., Hoppel, B. E., Cohen, M. S., Turner, R., 1992. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 89 (12), 5675–5679.
- Langenecker, S. A., Nielson, K. A., Rao, S. M., 2004. fmri of healthy older adults during stroop interference. *NeuroImage* 21 (1), 192–200.
- Lee, D. W., Yu, B. P., 1990. Modulation of free radicals and superoxide dismutases by age and dietary restriction. *Aging (Milano)* 2 (4), 357–62.
- Leenders, K. L., Perani, D., Lammertsma, A. A., Heather, J. D., Buckingham, P., Healy, M. J., Gibbs, J. M., Wise, R. J., Hatazawa, J., Herold, S., 1990. Cerebral blood flow, blood volume and oxygen utilization. normal values and effect of age. *Brain : A Journal of Neurology* 113 (Pt 1), 27–47.
- Leontiev, O., Buxton, R. B., 2007. Reproducibility of bold, perfusion, and cmro2 measurements with calibrated-bold fmri. *NeuroImage* 35 (1), 175–184.
- Lesage, F., Brieu, N., Dubeau, S., Beaumont, E., 2009. Optical imaging of vascular and metabolic responses in the lumbar spinal cord after t10 transection in rats. *Neuroscience Letters* 454 (1), 105–109.
- Leung, T. S., Tachtsidis, I., Tisdall, M. M., Pritchard, C., Smith, M., Elwell, C. E., 2009. Estimating a modified grubb's exponent in healthy human brains with near infrared spectroscopy and transcranial doppler. *Physiological Measurement* 30 (1), 1–12.
- Li, J., Iadecola, C., 1994. Nitric oxide and adenosine mediate vasodilation during functional activation in cerebellar cortex. *Neuropharmacology* 33 (11), 1453–1461.
- Li, Z., Moore, A. B., Tyner, C., Hu, X., 2009. Asymmetric connectivity reduction and its relationship to "harold" in aging brain. *Brain Research* 1295, 149–158.

- Lipsitz, L. A., Mukai, S., Hamner, J., Gagnon, M., Babikian, V., 2000. Dynamic regulation of middle cerebral artery blood flow velocity in aging and hypertension. *Stroke* 31 (8), 1897–903.
- Liu, H., Gao, J., 2000. An investigation of the impulse functions for the nonlinear bold response in functional mri. *Magnetic Resonance Imaging* 18 (8), 931–938.
- Logothetis, N. K., 2002. The neural basis of the blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging signal. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 357 (1424), 1003–1037.
- Logothetis, N. K., 2003. The underpinnings of the bold functional magnetic resonance imaging signal. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23 (10), 3963–3971.
- Logothetis, N. K., Guggenberger, H., Peled, S., Pauls, J., 1999. Functional imaging of the monkey brain. *Nature Neuroscience* 2 (6), 555–562.
- Lu, H., Golay, X., Pekar, J. J., Van Zijl, P. C. M., 2003. Functional magnetic resonance imaging based on changes in vascular space occupancy. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 50 (2), 263–274.
- Lu, H., Zhao, C., Ge, Y., Lewis-Amezcu, K., 2008. Baseline blood oxygenation modulates response amplitude : Physiologic basis for intersubject variations in functional mri signals. *Magnetic Resonance in Medicine* 60 (2), 364–372.
- Luckl, J., Baker, W., Sun, Z.-H., Durduran, T., Yodh, A. G., Greenberg, J. H., 2010. The biological effect of contralateral forepaw stimulation in rat focal cerebral ischemia : a multispectral optical imaging study. *Frontiers in Neuroenergetics* 2.
- Luckl, J., Zhou, C., Durduran, T., Yodh, A. G., Greenberg, J. H., 2008. Characterization of periinfarct flow transients with laser speckle and doppler after middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neurosci Res* 87 (5), 1219–1229.
- Lynch, C. D., Cooney, P. T., Bennett, S. A., Thornton, P. L., Khan, A. S., Ingram, R. L., Sonntag, W. E., 1999. Effects of moderate caloric restriction on cortical microvascular density and local cerebral blood flow in aged rats. *Neurobiol Aging* 20 (2), 191–200.
- Machado, A., Lina, J. M., Tremblay, J., Lassonde, M., Nguyen, D. K., Lesage, F., Grova, C., 2011. Detection of hemodynamic responses to epileptic activity using simultaneous electroencephalography (eeg)/near infra red spectroscopy (nirs) acquisitions. *NeuroImage* 56 (1), 114–125.

- Magistretti, P. J., Pellerin, L., 1999. Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 354 (1387), 1155–63.
- Mandeville, J. B., Marota, J. J., Ayata, C., Zaharchuk, G., Moskowitz, M. A., Rosen, B. R., Weisskoff, R. M., 1999. Evidence of a cerebrovascular postarteriole windkessel with delayed compliance. *J Cereb Blood Flow Metab* 19 (6), 679–89.
- Marchal, G., Rioux, P., Petit-Taboue, M. C., Sette, G., Traverre, J. M., Le Poec, C., Courtheoux, P., Derlon, J. M., Baron, J. C., 1992. Regional cerebral oxygen consumption, blood flow, and blood volume in healthy human aging. *Arch Neurol* 49 (10), 1013–20.
- Martindale, J., Berwick, J., Martin, C., Kong, Y., Zheng, Y., Mayhew, J., 2005. Long duration stimuli and nonlinearities in the neural-haemodynamic coupling. *J Cereb Blood Flow Metab* 25 (5), 651–61.
- Masoro, E. J., 2005. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev* 126 (9), 913–22.
- Masoro, E. J., McCarter, R. J., Katz, M. S., McMahan, C. A., 1992. Dietary restriction alters characteristics of glucose fuel use. *J Gerontol* 47 (6), B202–8.
- Mathiesen, C., Caesar, K., Akgoren, N., Lauritzen, M., 1998. Modification of activity-dependent increases of cerebral blood flow by excitatory synaptic activity and spikes in rat cerebellar cortex. *The Journal of Physiology* 512 (Pt 2), 555–566.
- Mattson, M. P., Chan, S. L., Duan, W., 2002. Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet, and behavior. *Physiol Rev* 82 (3), 637–72.
- Mattson, M. P., Wan, R., 2005. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *J Nutr Biochem* 16 (3), 129–37.
- Matz, R. L., Schott, C., Stoclet, J. C., Andriantsitohaina, R., 2000. Age-related endothelial dysfunction with respect to nitric oxide, endothelium-derived hyperpolarizing factor and cyclooxygenase products. *Physiol Res* 49 (1), 11–8.
- Mayhan, W. G., Faraci, F. M., Baumbach, G. L., Heistad, D. D., 1990. Effects of aging on responses of cerebral arterioles. *The American Journal of Physiology* 258 (4 Pt 2), H1138–1143–H1138–1143.
- Mayhew, J., Johnston, D., Berwick, J., Jones, M., Coffey, P., Zheng, Y., 2000. Spectroscopic analysis of neural activity in brain : increased oxygen consumption following activation of barrel cortex. *Neuroimage* 12 (6), 664–75.
- Mayhew, J., Zheng, Y., Hou, Y., Vuksanovic, B., Berwick, J., Askew, S., Coffey, P., 1999. Spectroscopic analysis of changes in remitted illumination : the response to increased neural activity in brain. *Neuroimage* 10 (3 Pt 1), 304–26.

- Mehagnoul-Schipper, D. J., van der Kallen, B. F. W., Colier, W. N. J. M., van der Sluijs, M. C., van Erning, L. J. T. O., Thijssen, H. O. M., Oeseburg, B., Hoefnagels, W. H. L., Jansen, R. W. M. M., 2002. Simultaneous measurements of cerebral oxygenation changes during brain activation by near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging in healthy young and elderly subjects. *Human Brain Mapping* 16 (1), 14–23.
- Mesquita, R. C., Huppert, T. J., Boas, D. A., 2009. Exploring neuro-vascular and neuro-metabolic coupling in rat somatosensory cortex. *Physics in Medicine and Biology* 54 (2), 175–185.
- Mildner, T., Norris, D. G., Schwarzbauer, C., Wiggins, C. J., 2001. A qualitative test of the balloon model for bold-based mr signal changes at 3t. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 46 (5), 891–899.
- Miller, K. L., Luh, W. M., Liu, T. T., Martinez, A., Obata, T., Wong, E. C., Frank, L. R., Buxton, R. B., 2001. Nonlinear temporal dynamics of the cerebral blood flow response. *Human Brain Mapping* 13 (1), 1–12.
- Mitschelen, M., Garteiser, P., Carnes, B. A., Farley, J. A., Doblas, S., DeMoe, J. H., Warrington, J. P., Yan, H., Nicolle, M. M., Towner, R., 2009. Basal and hypercapnia-altered cerebrovascular perfusion predict mild cognitive impairment in aging rodents. *Neuroscience* 164 (3), 918–928.
- Mitzdorf, U., 1985. Current source-density method and application in cat cerebral cortex : investigation of evoked potentials and eeg phenomena. *Physiological Reviews* 65 (1), 37–100.
- Mohajerani, M. H., Aminoltejari, K., Murphy, T. H., 2011. Pnas plus : Targeted mini-strokes produce changes in interhemispheric sensory signal processing that are indicative of disinhibition within minutes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (22), E183–E191–E183–E191.
- Moody, D. M., Brown, W. R., Challa, V. R., Ghazi-Birry, H. S., Reboussin, D. M., 1997. Cerebral microvascular alterations in aging, leukoaraiosis, and alzheimer’s disease. *Ann N Y Acad Sci* 826, 103–16.
- Moreau, P., d’Uscio, L. V., Luscher, T. F., 1998. Structure and reactivity of small arteries in aging. *Cardiovasc Res* 37 (1), 247–53.
- Mozolic, J. L., 2010. A cognitive training intervention increases resting cerebral blood flow in healthy older adults. *Frontiers in Human Neuroscience* 4.
- Nagai, M., Hoshida, S., Kario, K., 2010. Hypertension and dementia. *American Journal of Hypertension* 23 (2), 116–124.

- Nair, D. G., 2005. About being bold. *Brain Research. Brain Research Reviews* 50 (2), 229–243.
- Nguyen, T. S., Winn, H. R., Janigro, D., 2000. Atp-sensitive potassium channels may participate in the coupling of neuronal activity and cerebrovascular tone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278 (3), H878–85.
- Niehaus, L., Lehmann, R., Roricht, S., Meyer, B. U., 2001. Age-related reduction in visually evoked cerebral blood flow responses. *Neurobiol Aging* 22 (1), 35–8.
- Norup Nielsen, A., Lauritzen, M., 2001. Coupling and uncoupling of activity-dependent increases of neuronal activity and blood flow in rat somatosensory cortex. *J Physiol* 533 (Pt 3), 773–85.
- Obata, T., Liu, T. T., Miller, K. L., Luh, W. M., Wong, E. C., Frank, L. R., Buxton, R. B., 2004. Discrepancies between bold and flow dynamics in primary and supplementary motor areas : application of the balloon model to the interpretation of bold transients. *NeuroImage* 21 (1), 144–153.
- Obrig, H., Villringer, A., 2003. Beyond the visible—imaging the human brain with light. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 23 (1), 1–18.
- Ogawa, S., Lee, T. M., Stepnoski, R., Chen, W., Zhu, X. H., Ugurbil, K., 2000. An approach to probe some neural systems interaction by functional mri at neural time scale down to milliseconds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (20), 11026–11031.
- Osborne, T. B., Mendel, L. B., Ferry, E. L., 1917. The effect of retardation of growth upon the breeding period and duration of life of rats. *Science (New York, N.Y.)* 45 (1160), 294–295.
- Palmer, H. S., Garzon, B., Xu, J., Berntsen, E. M., Skandsen, T., Haberg, A. K., 2010. Reduced fractional anisotropy does not change the shape of the hemodynamic response in survivors of severe traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma* 27 (5), 853–862.
- Park, L., Anrather, J., Girouard, H., Zhou, P., Iadecola, C., 2007. Nox2-derived reactive oxygen species mediate neurovascular dysregulation in the aging mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 27 (12), 1908–18.
- Parkes, L. M., Rashid, W., Chard, D. T., Tofts, P. S., 2004. Normal cerebral perfusion measurements using arterial spin labeling : reproducibility, stability, and age and gender effects. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 51 (4), 736–743.
- Parthasarathy, A. B., Tom, W. J., Gopal, A., Zhang, X., Dunn, A. K., 2008. Robust flow measurement with multi-exposure speckle imaging. *Opt Express* 16 (3), 1975–89.

- Peeters, R., 2001. Comparing bold fmri signal changes in the awake and anesthetized rat during electrical forepaw stimulation. *Magnetic Resonance Imaging* 19 (6), 821–826.
- Pellerin, L., Pellegrini, G., Bittar, P. G., Charnay, Y., Bouras, C., Martin, J. L., Stella, N., Magistretti, P. J., 1998. Evidence supporting the existence of an activity-dependent astrocyte-neuron lactate shuttle. *Developmental Neuroscience* 20 (4-5), 291–299.
- Perrin, D., Soulage, C., Pequignot, J. M., Geloën, A., 2003. Resistance to obesity in *lou/c* rats prevents ageing-associated metabolic alterations. *Diabetologia* 46 (11), 1489–96.
- Raemaekers, M., Vink, M., van den Heuvel, M. P., Kahn, R. S., Ramsey, N. F., 2006. Effects of aging on bold fmri during prosaccades and antisaccades. *Journal of Cognitive Neuroscience* 18 (4), 594–603.
- Ramirez-San-Juan, J. C., Ramos-García, R., Guizar-Iturbide, I., Martínez-Niconoff, G., Choi, B., 2008. Impact of velocity distribution assumption on simplified laser speckle imaging equation. *Optics Express* 16 (5), 3197–3203.
- Rasmussen, T., Schliemann, T., Sørensen, J. C., Zimmer, J., West, M. J., 1996. Memory impaired aged rats : no loss of principal hippocampal and subicular neurons. *Neurobiology of Aging* 17 (1), 143–147.
- Restom, K., Bangen, K. J., Bondi, M. W., Perthen, J. E., Liu, T. T., 2007. Cerebral blood flow and bold responses to a memory encoding task : a comparison between healthy young and elderly adults. *NeuroImage* 37 (2), 430–439.
- Richter, W., Richter, M., 2003. The shape of the fmri bold response in children and adults changes systematically with age. *NeuroImage* 20 (2), 1122–1131.
- Riddle, D. R., Sonntag, W. E., Lichtenwalner, R. J., 2003. Microvascular plasticity in aging. *Ageing Res Rev* 2 (2), 149–68.
- Russo, G., Leopold, J. A., Loscalzo, J., 2002. Vasoactive substances : nitric oxide and endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Vascul Pharmacol* 38 (5), 259–69.
- Sasaki, S., Yazawa, I., Miyakawa, N., Mochida, H., Shinomiya, K., Kamino, K., Momose-Sato, Y., Sato, K., 2002. Optical imaging of intrinsic signals induced by peripheral nerve stimulation in the in vivo rat spinal cord. *Neuroimage* 17 (3), 1240–55.
- Sato, C., Nemoto, M., Tamura, M., 2002. Reassessment of activity-related optical signals in somatosensory cortex by an algorithm with wavelength-dependent path length. *Jpn J Physiol* 52 (3), 301–12.
- Seidel, B., Bigl, M., Franke, H., Kittner, H., Kiess, W., Illes, P., Krugel, U., 2006. Expression of purinergic receptors in the hypothalamus of the rat is modified by reduced food availability. *Brain Research* 1089 (1), 143–152.

- Sen, T., Sen, N., Jana, S., Khan, F. H., Chatterjee, U., Chakrabarti, S., 2007. Depolarization and cardiolipin depletion in aged rat brain mitochondria : relationship with oxidative stress and electron transport chain activity. *Neurochem Int* 50 (5), 719–25.
- Severinghaus, J. W., 1979. Simple, accurate equations for human blood o₂ dissociation computations. *Journal of Applied Physiology : Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 46 (3), 599–602.
- Sheth, S. A., Nemoto, M., Guiou, M., Walker, M., Pouratian, N., Hageman, N., Toga, A. W., 2004a. Columnar specificity of microvascular oxygenation and volume responses : implications for functional brain mapping. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 24 (3), 634–641.
- Sheth, S. A., Nemoto, M., Guiou, M., Walker, M., Pouratian, N., Toga, A. W., 2004b. Linear and nonlinear relationships between neuronal activity, oxygen metabolism, and hemodynamic responses. *Neuron* 42 (2), 347–355.
- Shin, H. K., Dunn, A. K., Jones, P. B., Boas, D. A., Lo, E. H., Moskowitz, M. A., Ayata, C., 2007. Normobaric hyperoxia improves cerebral blood flow and oxygenation, and inhibits peri-infarct depolarizations in experimental focal ischaemia. *Brain* 130 (Pt 6), 1631–42.
- Shin, H. K., Nishimura, M., Jones, P. B., Ay, H., Boas, D. A., Moskowitz, M. A., Ayata, C., 2008. Mild induced hypertension improves blood flow and oxygen metabolism in transient focal cerebral ischemia. *Stroke* 39 (5), 1548–55.
- Shmuel, A., Yacoub, E., Pfeuffer, J., Van de Moortele, P. F., Adriany, G., Hu, X., Ugurbil, K., 2002. Sustained negative bold, blood flow and oxygen consumption response and its coupling to the positive response in the human brain. *Neuron* 36 (6), 1195–1210.
- Sirotnin, Y. B., Das, A., 2009. Anticipatory haemodynamic signals in sensory cortex not predicted by local neuronal activity. *Nature* 457 (7228), 475–479.
- Slosman, D. O., Chicherio, C., Ludwig, C., Genton, L., de Ribaupierre, S., Hans, D., Pichard, C., Mayer, E., Annoni, J. M., de Ribaupierre, A., 2001. (133)xe spect cerebral blood flow study in a healthy population : determination of t-scores. *Journal of Nuclear Medicine : Official Publication, Society of Nuclear Medicine* 42 (6), 864–870.
- Sohal, R. S., Weindruch, R., 1996. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 273 (5271), 59–63.
- Sokoya, E. M., Burns, A. R., Setiawan, C. T., Coleman, H. A., Parkinson, H. C., Tare, M., 2006. Evidence for the involvement of myoendothelial gap junctions in edhf-mediated relaxation in the rat middle cerebral artery. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 291 (1), H385–393–H385–393.

- Solbakk, A., Alpert, G., Furst, A., Hale, L., Oga, T., Chetty, S., Pickard, N., Knight, R., 2008. Altered prefrontal function with aging : Insights into age-associated performance decline. *Brain Research* 1232, 30–47.
- Sonntag, W. E., Lynch, C. D., Cooney, P. T., Hutchins, P. M., 1997. Decreases in cerebral microvasculature with age are associated with the decline in growth hormone and insulin-like growth factor 1. *Endocrinology* 138 (8), 3515–20.
- Sorond, F. A., Schnyer, D. M., Serrador, J. M., Milberg, W. P., Lipsitz, L. A., 2008. Cerebral blood flow regulation during cognitive tasks : effects of healthy aging. *Cortex* 44 (2), 179–84.
- Soulage, C., Pequignot, J. M., Perrin, D., 2004. Breathing pattern and hypoxic sensitivity during ageing in a new model of obesity-resistant rat. *Respir Physiol Neurobiol* 144 (1), 45–57.
- Stoquart-ElSankari, S., Baledent, O., Gondry-Jouet, C., Makki, M., Godefroy, O., Meyer, M.-E., 2007. Aging effects on cerebral blood and cerebrospinal fluid flows. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 27 (9), 1563–1572.
- Takada, H., Nagata, K., Hirata, Y., Satoh, Y., Watahiki, Y., Sugawara, J., Yokoyama, E., Kondoh, Y., Shishido, F., Inugami, A., 1992. Age-related decline of cerebral oxygen metabolism in normal population detected with positron emission tomography. *Neurological Research* 14 (2 Suppl), 128–131.
- Tang, L., Avison, M. J., Gore, J. C., 2009. Nonlinear blood oxygen level-dependent responses for transient activations and deactivations in v1 - insights into the hemodynamic response function with the balloon model. *Magnetic Resonance Imaging* 27 (4), 449–459.
- Tekes, A., Mohamed, M. A., Browner, N. M., Calhoun, V. D., Yousem, D. M., 2005. Effect of age on visuomotor functional mr imaging. *Academic Radiology* 12 (6), 739–745.
- Thanos, P. K., Michaelides, M., Gispert, J. D., Pascau, J., Soto-Montenegro, M. L., Desco, M., Wang, R., Wang, G. J., Volkow, N. D., 2008. Differences in response to food stimuli in a rat model of obesity : in-vivo assessment of brain glucose metabolism. *International Journal of Obesity* (2005) 32 (7), 1171–1179.
- Thomsen, K., Offenhauser, N., Lauritzen, M., 2004. Principal neuron spiking : neither necessary nor sufficient for cerebral blood flow in rat cerebellum. *The Journal of Physiology* 560 (Pt 1), 181–189.
- Toga, A. W., Thompson, P. M., 2003. Mapping brain asymmetry. *Nature Reviews. Neuroscience* 4 (1), 37–48.

- Tumeh, P. C., Alavi, A., Houseni, M., Greenfield, A., Chryssikos, T., Newberg, A., Torigian, D. A., Moonis, G., 2007. Structural and functional imaging correlates for age-related changes in the brain. *Seminars in Nuclear Medicine* 37 (2), 69–87.
- Uchida, S., Kagitani, F., Nakayama, H., Sato, A., 1997. Effect of stimulation of nicotinic cholinergic receptors on cortical cerebral blood flow and changes in the effect during aging in anesthetized rats. *Neuroscience Letters* 228 (3), 203–206.
- Ungvari, Z., Parrado-Fernandez, C., Csiszar, A., de Cabo, R., 2008. Mechanisms underlying caloric restriction and lifespan regulation : implications for vascular aging. *Circ Res* 102 (5), 519–28.
- Vanzetta, I., Grinvald, A., 2008. Coupling between neuronal activity and microcirculation : implications for functional brain imaging. *HFSP Journal* 2 (2), 79–98.
- Vanzetta, I., Hildesheim, R., Grinvald, A., 2005. Compartment-resolved imaging of activity-dependent dynamics of cortical blood volume and oximetry. *J Neurosci* 25 (9), 2233–44.
- Veyrat-Durebex, C., Alliot, J., Gaudreau, P., 2005. Regulation of the pituitary growth hormone-releasing hormone receptor in ageing male and female lou rats : new insights into healthy ageing. *Journal of Neuroendocrinology* 17 (11), 691–700.
- Veyrat-Durebex, C., Montet, X., Vinciguerra, M., Gjinovci, A., Meda, P., Foti, M., Rohner-Jeanrenaud, F., 2009. The lou/c rat : a model of spontaneous food restriction associated with improved insulin sensitivity and decreased lipid storage in adipose tissue. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 296 (5), E1120–1132–E1120–1132.
- Villringer, A., Planck, J., Hock, C., Schleinkofer, L., Dirnagl, U., 1993. Near infrared spectroscopy (nirs) : a new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults. *Neuroscience Letters* 154 (1-2), 101–104.
- Wang, M., Monticone, R. E., Lakatta, E. G., 2010. Arterial aging : a journey into subclinical arterial disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 19 (2), 201–207.
- Yamaguchi, T., Kanno, I., Uemura, K., Shishido, F., Inugami, A., Ogawa, T., Murakami, M., Suzuki, K., 1986. Reduction in regional cerebral metabolic rate of oxygen during human aging. *Stroke* 17 (6), 1220–8.
- Yildiz, O., 2007. Vascular smooth muscle and endothelial functions in aging. *Ann N Y Acad Sci* 1100, 353–60.
- Yu, B. P., 1996. Aging and oxidative stress : modulation by dietary restriction. *Free Radic Biol Med* 21 (5), 651–68.
- Zhang, Y., Peng, Y.-y., Chen, G.-y., Chen, W.-f., 2010. Cerebral blood flow, cerebral blood volume, oxygen utilization and oxygen extraction fraction : the influence of age,[en chinois].

Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao = Journal of Southern Medical University 30 (6), 1237–1239.

Zheng, Y., Johnston, D., Berwick, J., Chen, D., Billings, S., Mayhew, J., 2005. A three-compartment model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *NeuroImage* 28 (4), 925–939.

Zheng, Y., Martindale, J., Johnston, D., Jones, M., Berwick, J., Mayhew, J., 2002. A model of the hemodynamic response and oxygen delivery to brain. *NeuroImage* 16 (3 Pt 1), 617–637.

Zheng, Y., Mayhew, J., 2009. A time-invariant visco-elastic windkessel model relating blood flow and blood volume. *NeuroImage* 47 (4), 1371–1380.

Zheng, Y., Pan, Y., Harris, S., Billings, S., Coca, D., Berwick, J., Jones, M., Kennerley, A., Johnston, D., Martin, C., 2010. A dynamic model of neurovascular coupling : Implications for blood vessel dilation and constriction. *NeuroImage* 52 (3), 1135–1147.

Zoccoli, G., Lucchi, M. L., Andreoli, E., Lenzi, P., Franzini, C., 2000. Density of perfused brain capillaries in the aged rat during the wake-sleep cycle. *Exp Brain Res* 130 (1), 73–7.

Zysset, S., Schroeter, M. L., Neumann, J., Yves von Cramon, D., 2006. Stroop interference, hemodynamic response and aging : An event-related fmri study. *Neurobiology of Aging*.